

**Identifikasi Ekspresi *Transforming Growth Factor* (TGF
 β) Reseptor dan Gambaran Histopatologi Ovarium
Kasus Hipofungsi Ovarium pada Kambing
Peranakan Etawa (PE)**

SKRIPSI

Oleh :
TRI SAPUTRA
145130101111079



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**Identifikasi Ekspresi *Transforming Growth Factor* (TGF
 β) Reseptor dan Gambaran Histopatologi Ovarium
 Kasus Hipofungsi Ovarium pada Kambing
 Peranakan Etawa (PE)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
 Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :
TRI SAPUTRA
 145130101111079



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
 FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA
 MALANG
 2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Identifikasi Ekspresi *Transforming Growth Factor β* (TGF β) Reseptor dan
Gambaran Histopatologi Ovarium Kasus Hipofungsi Ovarium
pada Kambing Peranakan Etawa (PE)**

**Oleh:
TRI SAPUTRA
145130101111079**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 7 Agustus 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Dra. Herawati, MP
NIP. 19580127 198503 2 001

drh. Fajar Shodiq Permata, M. Biotech
NIP. 19870501201504 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Tri Saputra

NIM : 135130101111065

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

**Identifikasi Ekspresi *Transforming Growth Factor β* (TGF β)
Reseptor dan Gambaran Histopatologi Ovarium Kasus Hipofungsi
Ovarium pada Kambing Peranakan Etawa (PE)**

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang tercantum di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Maret 2018
Yang menyatakan,

(TRI SAPUTRA)
NIM. 145130101111079

**Identifikasi Ekspresi *Transforming Growth Factor β* (TGF β) Reseptor dan
Gambaran Histopatologi Ovarium Kasus Hipofungsi Ovarium
Pada Kambing Peranakan Etawa (PE)**

ABSTRAK

Kegagalan reproduksi atau kemajiran yang sering dialami ternak kambing adalah gagalnya fungsi hormonal reproduksi. Salah satu bentuk gangguan hormonal terhadap reproduksi hewan betina adalah hipofungsi ovarium yang ditandai dengan gangguan folikulogenesis. TGF β Receptor pada ovarium memiliki fungsi membantu proses follikulogenesis. Penelitian ini bertujuan membandingkan ekspresi reseptor TGF β receptor dan gambaran histopatologi ovarium pada kambing yang mengalami hipofungsi dan kambing normal. Sampel ovarium yang digunakan sebanyak 10 sampel ovarium normal dan 10 sampel ovarium yang mengalami hipofungsi pada kambing PE yang berumur 8-10 bulan yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan. Metode yang digunakan yaitu ovarium di cuci dengan NaCl kemudian dimasukkan ke dalam pot yang berisi formalin 10%. TGF β receptor diamati dengan pewarnaan Imunohistokimia dan dianalisa dengan immunoratio. Hasil penelitian menunjukkan adanya ekspresi TGF β receptor pada folikel preantral dan antral pada kambing PE normal, sedangkan pada kambing PE yang mengalami hipofungsi terjadi penurunan ekspresi pada pada folikel preantral. Pada gambaran histopatologi ovarium kambing PE normal menunjukkan perkembangan folikel preantral dan antral, sedangkan pada ovarium hipofungsi hanya terbentuk folikel preantral. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu Ekspresi *Transforming Growth Factor β* (TGF β) reseptor pada ovarium normal memiliki persentase yang lebih tinggi dibandingkan dengan ovarium yang mengalami hipofungsi, pada pengamatan histopatologi folikel lebih baik perkembangannya pada ovarium normal dibandingkan ovarium hipofungsi.

Kata kunci : *Hipofungsi Ovarium, Folikulogenesis, Ekspresi Transforming Growth Factor β (TGF β) Receptor, Imunohistokimia, Hematoxyline Eosin.*

**The Identification of Expression of Transforming Growth Factor β (TGF β)
Receptor and Histopathology Description of Ovarian from Cases Ovarian
Hypofunction on The Peranakan Etawa (PE) Goat**

ABSTRACT

Reproductive failure or infertility of the goat is often experienced with failed hormonal reproductive function. One form of hormonal disturbances toward the animal's reproductive females is hypofunction ovary disorder marked by folliculogenesis. TGF β Receptor in the ovary has functioned to helps the process of folliculogenesis. This study aims to compare the expression TGF β receptor and ovarian histopathology description on goats from hypofunction group and normal group. The samples were 10 samples of normal ovaries and 10 samples from ovarian hypofunction in PE goats with 8-10 months. The samples were obtained from the Slaughterhouse Animals. Methods were the ovaries washed with NaCl then placed into a pot containing 10% formalin. TGF β receptor is observed by Immunohistochemical staining and analyzed by ImmunoRatio. The results showed the presence of TGF β receptors in preantral and antral follicles in normal PE goats, whereas in hypofunctional PE goats there was a decrease in preantral follicles. On normal PE goat histopathology picture shows the development of preantral and antral follicles, whereas in the ovary the hypofunction only produces preantral follicles. In the histopathologic ovaries, PE showed the development of preantral and antral follicles, whereas in the hipofunction ovary only preantral follicles were formed. The conclusion of this research is expression of Transforming Growth Factor β (TGF β) receptor in normal ovaries with higher percentage compared with hypofunctional ovaries, histopathological observation of follicles is better in normal ovaries than in hypofunction ovaries.

Keywords: *Hypofunction ovary, Folliculogenesis, Transforming Growth Factor Receptor β (TGF β R), Immunohistochemistry, Hematoxylene Eosin*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir /skripsi yang berjudul “Identifikasi Ekspresi *Transforming Growth Factor β* (TGF β) Reseptor dan Gambaran Histopatologi Ovarium Kasus Hipofungsi Ovarium pada Kambing Peranakan Etawa (PE)”. Penelitian ini adalah bagian dari payung penelitian yang diketuai oleh Dr. Dra. Herawati, MP dan didanai oleh BOPTN. Serta merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

Dengan penuh rasa hormat dan ketulusan hati, penulis mengucapkan terimakasih kepada segenap pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu dalam penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih terutama kepada :

1. Dr. Dra. Herawati, MP sebagai pembimbing I tugas Sarjana ini atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan dan arahan yang diberikan kepada penulis.
2. drh. Fajar shodiq Permata, M.Biotech sebagai pembimbing II tugas Sarjana ini atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan dan arahan yang diberikan kepada penulis.
3. drh. Viski Fitri Hendrawan, M.Vet sebagai dosen penguji I yang telah banyak memberikan saran dan kritik yang membangun kepada penulis.
4. drh. Desi Wulansari, M.Vet sebagai dosen penguji II yang telah banyak memberikan saran dan kritik yang membangun kepada penulis.
5. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya
6. Dr. Dra. Herawati, MP, dan drh. Yudit Oktanella, M.Si sebagai dosen payung penelitian bagi penulis yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk turut serta dalam penelitian.
7. Keluarga yang selalu memberi kasih sayang, dorongan dan dukungan untuk menyelesaikan studi serta perhatiannya akan kebutuhan penulis baik secara moril maupun materi dan seluruh dosen yang telah membimbing dan memberikan ilmu selama menjalankan studi di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya
8. Teman seperjuangan Indah Setio Wardani atas kontribusi, bantuan dan inspirasi dalam menyelesaikan penelitian ini.
9. Seluruh teman dan sahabat di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, dan teman-teman angkatan 2014 pada umumnya.
10. Teman-teman asisten laboratorium Reproduksi yang telah memberikan dukungan kepada penulis.

Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat dan informasi yang sebaik-baiknya khususnya bagi penulis sendiri dan rekan-rekan mahasiswa yang lain. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis memohon maaf atas kekurangan tersebut dan mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun untuk hasil yang lebih baik.

Malang, Desember 2017

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kambing	5
2.2 Ovarium Kambing	10
2.3 Pembentukan Oosit.....	19
2.4 Hipofungsi Ovarium	23
2.5 <i>Transforming Growth Factor β</i> (TGF β).....	26
BAB III. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	29
3.1 Kerangka Konsep	29
3.2 Hipotesis Penelitian	31
BAB IV. METODE PENELITIAN	32
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	32
4.2 Alat dan Bahan	32
4.3 Tahapan Penelitian	33
4.4 Prosedur Kerja	33
4.5 Analisa Data	38
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	39
5.1 Ekspresi TGF β reseptor pada Ovarium Hipofungsi	39
5.2 Analisa letak TGF β reseptor pada ovarium hipofungsi.....	41
5.3 Gambaran histopatologi ovarium yang mengalami hipofungsi.....	47

BAB VI. PENUTUP	53
6.1 Kesimpulan.....	53
6.2 Saran	53
 DAFTAR PUSTAKA	 54
LAMPIRAN	57



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Kambing Peranakan Ettawah	5
2.2 Histologi Ovarium.....	12
2.3 Struktur Mikroskopis Ovarium	14
2.4 Skematik Perkembangan Sel-sel Folikel.....	16
2.5 Proses Oogenesis.....	22
2.6 Hipofungsi Ovarium.....	25
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	29
5.1 Organ Reproduksi Kambing	40
5.2 Ekspresi TGF β pada Ovarium Normal pada Folikel Preantral	41
5.3 Ekspresi TGF β pada Ovarium Normal pada Folikel Antral	42
5.4 Ekspresi TGF β pada Ovarium Hipofungsi pada Folikel Preantral	42
5.5 Ekspresi TGF β pada Ovarium Hipofungsi pada Folikel Atresia	43
5.6 Gambaran Histopatologi Ovarium Normal pada folikel Preantral	47
5.7 Gambaran Histopatologi Ovarium Normal pada folikel Antral.....	47
5.8 Gambaran Histopatologi Ovarium Hipofungsi pada folikel Preantral..	48
5.9 Gambaran Histopatologi Ovarium Hipofungsi pada folikel Atresia.....	48
5.10 Interaksi Sinyal Potensial	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Rancangan Penelitian	57
2. Kerangka Operasional	58
3. Skema Pembuatan Preparat	59
4. Skema Pewarnaan IHK	60
5. Skema Pewarnaan HE	61
6. Uji Statistik Menggunakan SPSS	62



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/ Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
°C	Derajat Celcius
%	Persen
μ	Mikro
μL	Mikroliter
BCS	Body Condition Scoring
BNJ	uji Beda Nyata Jujur
cm	Sentimeter
CO ₂	Karbon-dioksida
CPE	<i>Corona Penetrating Enzim</i>
DNA	<i>Deoxyribose-nucleic acid</i>
EDTA	<i>Ethylene diamine tetra acetic acid</i>
FITC	<i>Fluorescein Isothiocyanate</i>
FSH	<i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GnRH	<i>Gonadotropin-Releasing Hormone</i>
gr	Gram
GV	<i>Germinal Vesicle</i>
H ₂ O ₂	Hidrogen peroksida
HPO	Hipofungsi Ovarium
hMG	Human Menopausal Gonadotropin
IB	Inseminasi Buatan
LH	<i>Luteinizing Hormone</i>
mA	Miliampere
mg	Miligram
ml	Mililiter
mm	Milimeter
mRNA	messenger-Ribonucleic Acid
NaCl	<i>Natrium Chlorida</i>
NC	<i>Nitroselulose</i>
TGF β	<i>Transforming Growth Factor β</i>
PB	<i>phosphat buffer</i>
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PE	Peranakan Ettawa
PMSG	Pregnant mare serum gonadotropin
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
RPH	Rumah Potong Hewan
rpm	Rotasi per menit

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kegagalan reproduksi lebih sering terletak pada kesalahan manajemen seperti dalam pemberian pakan yang tidak sesuai, sedangkan dari pakan tersebut rendah khususnya kandungan vitamin, mineral dan energi yang dibutuhkan, sehingga dapat menyebabkan gangguan hormonal. Salah satu bentuk gangguan hormonal terhadap reproduksi hewan betina adalah hipofungsi ovarium (HPO) yang dapat memperpanjang selang beranak (calving interval). Keadaan demikian dapat berakibat langsung pada penurunan produksi susu dan secara tidak langsung pada penurunan populasi ternak khususnya kambing peranakan etawa. Hal ini merupakan kerugian besar bagi peternak kambing peranakan etawa (Sirojudin, 2000).

Kasus hipofungsi ovarium mencapai 48,5 % dari seluruh kasus gangguan reproduksi yang ada di Indonesia. Terdapat beberapa usaha yang dilakukan oleh peternak untuk mengatasi masalah hipofungsi ovarium ini, diantaranya yaitu dengan menggunakan hormon gonadotropin, estrogen dan progesterone atau dengan cara pemijatan ovari (*massage ovary*) dan memperbaiki kualitas serta kuantitas pakan yang diberikan (Sirojudin, 2000).

Salah satu reseptor yang berada pada ovarium yaitu *Transforming Growth Factor β Reseptor* (TGF β R). TGF β R merupakan tempat melekatnya TGF β members. TGF β members merupakan *growth factor* pada mamalia yang berfungsi membantu proses folliculogenesis, ovulasi dan implantasi embrio (Li *et al*, 2011).

Menurut Li *et al* (2011) TGF β R1 adalah reseptor tipe 1 untuk ligan TGF β . Secara *in vitro*, TGF β R1 juga dapat memediasi sinyal TGF β members protein yang disekresikan oosit diperlukan untuk folikulogenesis ovarium, fungsi sel cumulus, dan perkembangan oosit. Hal ini menunjukkan peran TGF β R1 dalam reproduksi betina secara *in vivo*. Pada penelitian sebelumnya pada ovarium *defect*, ditemukan TGF β R yang terlokalisasi di sel granulosa, cumulus sel dan lapisan theka saat perkembangan folikel.

Penelitian sebelumnya terkait ekspresi TGF β reseptor telah dilakukan pada sapi (Sugawara *et al*, 2010), tikus (Li *et al*, 2011) dan domba (Piotrowska *et al*, 2013). Sampai saat ini belum ada penelitian tentang ekspresi reseptor TGF β pada kasus hipofungsi ovarium pada kambing. Maka, penelitian ini merupakan salah satu peluang untuk terus dipelajari dalam upaya mengetahui lebih lanjut tentang TGF β reseptor sebagai biomarker hipofungsi ovarium. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk melihat ada-tidaknya reseptor pada kasus hipofungsi ovarium kambing PE.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana perbedaan ekspresi *Transforming Growth Factor β* (TGF β) reseptor pada ovarium hipofungsi dibandingkan dengan ovarium yang normal pada kambing PE?
2. Bagaimana perbedaan gambaran histopatologi pada ovarium hipofungsi dibandingkan dengan ovarium yang normal pada kambing PE?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Ovarium kambing diperoleh dari kambing PE betina umur 8-10 bulan yang dipotong di Rumah Potong Hewan (RPH) dan sebelum dibawa ke laboratorium ovarium dicuci dalam NaCl kemudian dimasukkan dalam pot sampel berisi formalin 10%.
2. Sampel ovarium yang digunakan terdiri dari ovarium normal yaitu ovarium yang memiliki folikel-folikel secara makroskopik dan ovarium yang mengalami hipofungsi yaitu ovarium yang tidak memiliki fase folikuler maupun luteal.
3. Ekspresi *Transforming Growth Factor β* (TGF β) reseptor pada ovarium kambing Peranakan Etawa (PE) diamati menggunakan metode Imunohistokimia.
4. Antibodi yang digunakan untuk Imunohistokimia yaitu antibodi *Transforming Growth Factor- β 1* (TGF β 1) Receptor
5. Pengamatan ekspresi *Transforming Growth Factor β* (TGF β) reseptor dilakukan dengan mengukur presentase area ekspresi yang berwarna coklat menggunakan *software ImmunoRatio*.
6. Analisis data hasil ekspresi dilakukan menggunakan metode statistika *T test independent* dengan angka kepercayaan 95% ($p < 0,05$) menggunakan *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS).
7. Pengamatan histopatologi organ ovarium dilakukan dengan pewarnaan *Hemotoxinilin-Eosin* (HE).

8. Analisa histopatologi ovarium yang mengalami hipofungsi dan ovarium normal meliputi perkembangan folikel.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui perbedaan ekspresi *Transforming Growth Factor β* (TGF β) reseptor pada ovarium hipofungsi dibandingkan dengan ovarium yang normal pada kambing PE
2. Mengetahui perbedaan gambaran histopatologi pada ovarium hipofungsi dibandingkan dengan ovarium yang normal pada kambing PE

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan oleh penulis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian ini dapat digunakan sebagai kajian ilmiah mengenai perbedaan ekspresi *Transforming Growth Factor β* (TGF- β) reseptor pada ovarium normal kambing etawa dan ovarium hipofungsi.
2. Penelitian ini dapat digunakan sebagai kajian ilmiah mengenai perbedaan histopatologi jaringan ovarium yang mengalami hipofungsi dan ovarium normal.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kambing

2.1.1 Karakteristik kambing

Kambing adalah salah satu ternak yang banyak dipelihara oleh masyarakat Indonesia. Beternak kambing cukup diminati oleh masyarakat karena pemeliharaannya yang mudah dan murah, mampu beradaptasi dengan baik serta kemampuan yang lebih efisien dalam mengubah pakan yang berkualitas rendah menjadi produk ternak berupa daging dan susu. Ternak kambing pertama kali dipelihara di daerah pegunungan Asia Barat pada kurun waktu 8.000-7.000 SM. Jadi, sebagai ternak kambing lebih tua dari pada sapi. Diduga kambing yang dipelihara saat ini (*Capra aegagrus hircus*) berasal dari keturunan tiga macam kambing liar yaitu Benzoar goat atau kambing liar Eropa (*Capra aegagrus*), kambing liar India (*Capra aegagrus blithy*) dan Markhor goat atau kambing Markhor (*Capra falconeri*). Persilangan yang terjadi antara ketiga jenis kambing tersebut menghasilkan keturunan yang subur (Chen, 2005).



Gambar 2.1 Kambing Peranakan Ettawah (Prabowo, 2010)

Salah satu kambing yang terkenal dan sangat diminati adalah kambing Peranakan Ettawa (PE) karena jenis kambing ini memiliki fungsi sebagai penghasil daging dan penghasil susu. Kambing Peranakan Ettawa adalah kambing hasil silangan dari kambing Ettawa dengan kambing lokal (kambing Kacang) (Moeljanto dan Wiryanto, 2002).

Kambing Peranakan Etawah (PE) merupakan kambing hasil persilangan antara kambing Etawah (asal India) dengan kambing Kacang. Kambing ini tersebar hampir diseluruh Indonesia. Penampilannya mirip kambing Etawah, tetapi lebih kecil. Kambing PE merupakan kambing tipe dwiguna, yaitu sebagai penghasil daging dan susu (perah). Peranakan yang penampilannya mirip kambing Kacang disebut Bligon atau Jawa randu yang merupakan tipe pedaging. Ciri-ciri Kambing PE: telinga panjang dan terkulai, panjang telinga 18–30 cm, warna bulu bervariasi dari coklat muda sampai hitam. Bulu kambing PE jantan bagian atas leher dan pundak lebih tebal dan agak panjang. Bulu kambing PE betina pada bagian paha panjang. Berat badan kambing PE jantan dewasa 40 kg dan betina 35 kg, tinggi pundak 76-100 cm (Prabowo, 2010).

Menurut Heriyadi (2004) bahwa kambing PE mempunyai telinga yang melipat kearah depan dan menggantung, warna bulu bervariasi antara hitam, putih dan coklat. Kambing jantan mempunyai bulu yang tebal dan agak panjang di bawah leher dan pundak, sedangkan bulu kambing betina agak panjang pada bagian bawah ekor ke arah garis kaki.

Pakan yang biasa dikonsumsi oleh kambing PE dewasa adalah hijauan yang berupa dedaunan atau *rambanan* serta tambahan pakan konsentrat. Dedaunan yang dimaksud adalah daun-daun dari berbagai macam tanaman atau pepohonan dan bukan jenis rerumputan. Pakan utama untuk anak kambing adalah susu. Susu ini bisa diberikan secara langsung dan tidak langsung. Pemberian secara langsung yaitu dengan cara menyusukan anak kambing pada induk sedangkan secara tidak langsung adalah dengan cara pemerahan dan diberikan pada anak kambing menggunakan botol atau ember. Anak kambing yang baru lahir harus segera diberikan kolostrum karena sebagai antibodi tubuh. Pemberian kolostrum ini dilakukan sampai umur 5 hari setelah kelahiran. Pakan anak kambing sangat menentukan perkembangan dan pertumbuhan tubuh ternak tersebut. Jika nutrisi tubuh tidak terpenuhi maka dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan sel-sel fisiologisnya (Blakely dan Bade, 1998).

2.1.2 Taksonomi kambing

Menurut Mileski and Myers (2004), ternak kambing memiliki klasifikasi ilmiah antara lain adalah :

Kerajaan	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Mammalia</i>
Ordo	: <i>Artiodactyla</i>
Famili	: <i>Bovidae</i>
Sub family	: <i>Caprinae</i>

Genus : *Capra*

Spesies : *Capra aegagrus hircus*

Ternak kambing atau sering disebut juga ternak ruminansia kecil merupakan ternak yang sangat populer di kalangan petani di Indonesia terutama yang berdomisili di areal pertanian/ perkebunan. Selain lebih mudah dipelihara, cepat berkembang biak, dapat memanfaatkan limbah dan hasil ikutan pertanian, ternak kambing juga memiliki pasar yang selalu tersedia setiap saat dan hanya memerlukan modal yang relatif sedikit bila dibandingkan ternak yang lebih besar seperti ternak sapi. Ternak kambing tersebar luas di daerah pedesaan yang pemeliharaannya bertujuan sebagai tabungan hidup yang bisa diambil sewaktu-waktu maupun sebagai ternak potong untuk kebutuhan konsumsi. Selain itu banyak manfaat yang bisa diperoleh dari usaha ternak kambing antara lain (Disnak Kabupaten Langkat):

1. Kotoran (feses) ternak kambing dapat dimanfaatkan sebagai pupuk organik maupun biogas.
2. Urine kambing juga dapat diolah menjadi pupuk cair
3. Kambing perah (etawah, peranakan etawah, saanen, dll) merupakan jenis ternak kambing yang dapat menghasilkan susu. Susu kambing juga memiliki protein yang tinggi dan dipercaya memiliki khasiat untuk kesehatan dan kecantikan.

Apabila pengelolaan usaha ternak kambing dapat dilaksanakan secara optimal maka akan lebih memberikan manfaat yang nyata dalam meningkatkan

pendapatan dan kesejahteraan bagi petani peternak. Apalagi apabila didukung dengan ketersediaan sumber daya alam yang mendukung dan memadai sebagai sumber pakan ternak maka usaha ternak kambing akan lebih mudah untuk dilaksanakan oleh berbagai lapisan masyarakat (Disnak Kabupaten Langkat).

2.1.3 Pubertas pada kambing

Diferensiasi organ reproduksi pada kambing jantan dimulai 35 hari umur konseptus dan skrotum sudah mulai terlihat pada fetus yang berumur 50-60 hari. Testes kambing umumnya sudah turun pada waktu lahir. Akan tetapi perkembangan yang sempurna dari organ reproduksi baru tercapai pada masa pubertas. Pada umur antara 100-150 hari atau lebih lama lagi. Dewasa kelamin kambing jantan, selain berhubungan erat dengan umur dan berat badannya, dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan terutama iklim dan pakan. Pubertas anak kambing dicapai setelah berat badannya mencapai 40-60% dari berat badan kambing dewasa (Hardijanto dkk, 2009).

Masa pubertas kambing betina umumnya lebih cepat dibanding masa pubertas kambing jantan. Pada saat pubertas, kambing betina akan mulai memperlihatkan kegiatan kelamin yang sering disebut birahi atau estrus. Umumnya kambing betina pada umur antara 9-10 bulan sudah mulai digunakan sebagai bibit. Pubertas kambing betina terjadi pada umur 6-7 bulan atau beratnya sekitar 50-60% dari berat induknya. Namun disarankan sebaiknya kambing betina dikawinkan setelah umurnya antara satu sampai dua tahun, karena perkembangan

tubuhnya yang telah siap untuk bunting dan merawat anaknya setelah dilahirkan nanti (Hardijanto dkk, 2009).

2.2 Ovarium Kambing

2.2.1 Karakteristik Ovarium Kambing

Ovarium merupakan organ primer pada betina, analog dengan testis pada jantan. Sebagaimana halnya testis, ovarium berkembang pada masa embrionik di daerah vertebrae lumbal pada bagian dorsal rongga perut, di belakang ginjal kiri dan kanan. Jika testes turun ke dalam skrotum, maka ovarium tetap tinggal di daerah tersebut (Arman, 2014). Ovarium ditunjang dan dipertautkan oleh bagian ligamentum lata yang disebut mesovarium di sebelah dorsal dan lateral dan oleh ligamen utero-ovarial di sebelah medial (Toelihere, 2006). Permukaan luar setiap ovarium terdedah pada tabung (tuba) falopi di dekatnya (Arman, 2014). Ovarium terletak pada batas kranial ligamentum lata, kadang-kadang di bawahnya, pada lantai ventrolateral pelvis di dekat, pada atau agak kranial ke inlet pelvis dan agak kranial dan lateral dari mulut dalam servix (Toelihere, 2006).

Ovarium terdiri dari suatu stroma atau jala tenunan pengikat dan pembuluh-pembuluh darah yang dikelilingi oleh selaput peritoneum kecuali pada batas pertautan atau hilus di mana pembuluh-pembuluh darah dan syaraf memasuki ovarium (Toelihere, 2006). Suplai darah ke ovarium adalah dari arteri ovarial dan suatu cabang arteri utero-ovarial. Suplai syaraf adalah syaraf-syaraf otonom dari plexus ovarial yang timbul dari plexus renalis dan aortik (Syamsuddin, 2014).

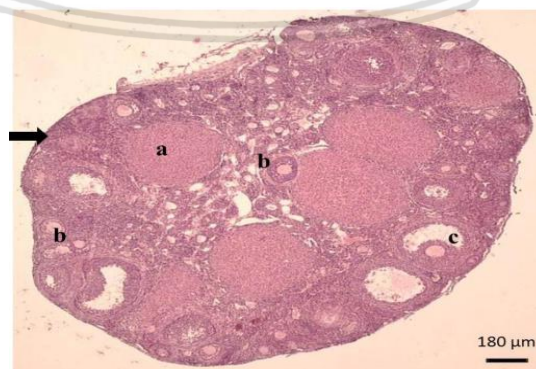
Ovarium terdiri atas bagian medula yang mengandung jalinan vaskular luas di dalam jaringan ikat selular longgar dan bagian korteks merupakan tempat dijumpai folikel ovarium, yang mengandung oosit (Syamsuddin, 2014). Menurut Ihsan (2010), medula ovarium terdiri dari jaringan ikat fibroelastik yang tidak teratur, dan sistem saraf dan pembuluh darah yang memasuki ovarium melalui hilus (pertautan antara ovarium dan mesovarium). Arteri tersebut tersusun dalam satu bentuk spiral yang definitif. Bagian korteks terdapat sel-sel interstitial, sel telur primitif, folikel sekunder yang sedang berkembang, folikel de Graff yang matang atau yang sedang menjadi matang, folikel atretik atau yang berdegenerasi (Toelihere, 2006). Jaringan ikat korteks mengandung banyak fibroblast, beberapa kolagen dan serabut-serabut retikuler, buluh-buluh darah, limphe, syaraf dan serabut-serabut otot licin. Sel-sel jaringan ikat dekat permukaan tersusun sejajar dengan permukaan ovarium dan agak lebih padat daripada sel-sel yang terletak ke arah medula. Lapisan padat ini dikenal sebagai tunica albugenia. Pada permukaan ovarium terdapat selapis sel-sel datar yang disebut germinal epithelium (Ihsan, 2010).

Ovarium kambing dewasa berbentuk bulat, oval atau memanjang dengan ukuran yang berbeda-beda, terpanjang sampai 2,2 cm pada kambing Eropa. Berat ovarium berkisar antara 1,8–3,5 g tergantung pada struktur yang terdapat di dalamnya yaitu korpus luteum atau folikel. Pada fase folikuler ovarium tampak licin mengkilat, dan folikel yang besar sering terlihat terang tembus atau kebiruan, diameternya 1,2 cm. Jika didapatkan banyak folikel yang besar, seolah

ovarium kambing seperti buah anggur (Hardijanto dkk., 2009). Ovarium kanan secara fisiologik agak lebih besar daripada ovarium kiri, karena secara fisiologik ia lebih aktif. Ovarium bertambah besar sewaktu hewan bertambah tua (Toelihere, 2006).

2.2.2 Histologi Ovarium

Secara histology ovarium dilapisi oleh epitel selapis kuboid atau *germinal epithelium*, tunika albuginea merupakan jaringan ikat padat yang terletak lebih dalam dari *germinal epithelium*. Setelah tunika albuginea terdapat dua lapisan korteks dan medulla. Korteks medulla merupakan jaringan ikat longgar dan terdapat folikel folikel. Bagian internal ovarium adalah medulla yang terdiri dari jaringan ikat longgar dan pembuluh darah yang masuk melalui hilum. Folikel ovarium yang terapat pada korteks dan berisi oosit yang sedang berkembang dan mengalami perubahan menjadi *follicle de Graaf* dan korpus luteum merupakan folikel matur setelah ovulasi yang memproduksi hormone reproduksi (Tortora dan Derrickson, 2009).



Gambar 2.2 Histologi Ovarium, corpus luteum (a), folikel sekunder (b), folikel tersier (c), korteks ovarium (→) (Ramadhani dkk., 2009).

2.2.3 Fungsi Ovarium Kambing

Seperti halnya testis, ovarium memiliki dua fungsi, yaitu menghasilkan gamet betina yang disebut ovum dan menghasilkan hormon-hormon kelamin betina (Arman, 2014). Syamsuddin (2014) menyebutnya sebagai organ eksokrin (menghasilkan sel telur) dan endokrin (menghasilkan hormon) yang berfungsi untuk memproduksi hormon-hormon pada siklus reproduksi.

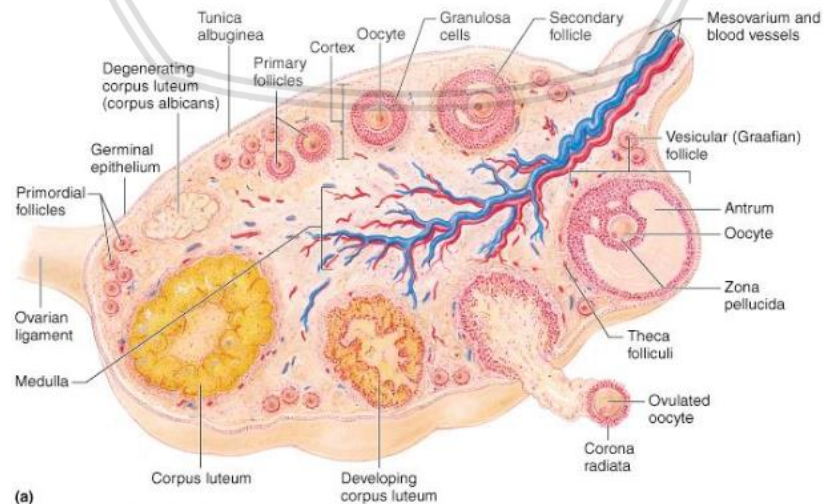
Oogenesis adalah proses pembentukan ovum, sel-sel reproduksi betina, yang dihasilkan di dalam folikel-folikel ovarium. Tidak seperti spermatozoa, ovum tidak terus menerus dihasilkan selama kehidupan reproduksi hewan betina. Pada saat atau sesaat sesudah lahir ovarium ditaburi (*seeded*) berpuluh-puluh ribu sel reproduksi yang belum matang (muda) yang disebut oosit. Beberapa di antara oosit ini akan masak menjadi ovum (sel-sel reproduksi betina matang atau dewasa) melalui kegiatan siklus (daur) ovarium. Oosit lainnya ada yang terdegenerasi atau tidak pernah memulai perkembangannya. Jumlah oosit di dalam ovarium segera sesudah lahir adalah jumlah maksimum yang dimiliki hewan tadi selama masa kehidupannya (Arman, 2014).

Hormon-hormon yang dihasilkan oleh ovarium digolongkan menjadi dua, yaitu estrogen dan progesteron (progestin). Estrogen dihasilkan oleh sel-sel dari folikel-folikel ovarium yang sedang berkembang dan estrogen bertanggungjawab terhadap perubahan-perubahan fisik dan bertingkah laku hewan dalam upaya menyiapkan perkawinan dan kebuntingan. Progestin,

terutama progesteron, dihasilkan oleh korpus luteum yang berkembang dari folikel kosong sesudah ovulasi. Progestin membantu menyiapkan uterus untuk menerima implantasi ovum yang telah dibuahi. Hormon ini juga diperlukan untuk mempertahankan kebuntingan setelah terjadi implantasi (Arman, 2014).

2.2.4 Siklus Ovarium Kambing

Siklus ovarium dimulai dengan fase folikuler. Ovum tidak dihasilkan terus menerus di dalam ovarium. Produksi ovum melibatkan peristiwa berurutan yang kompleks yang berlangsung dengan cara berulang (siklikal) di bawah pengaruh dua hormon (FSH dan LH) dari kelenjar pituitari anterior. Setiap siklus meliputi perkembangan ovum di dalam folikel, pelepasannya dari folikel (ovulasi), pembentukan korpus luteum, dan degenerasi folikel-folikel yang tidak matang (Arman, 2014). Folikel mencapai kematangannya melalui tingkatan-tingkatan perkembangan folikel-folikel primer, sekunder, tersier (yang sedang tumbuh) dan de Graff (matang) (Ihsan, 2010).

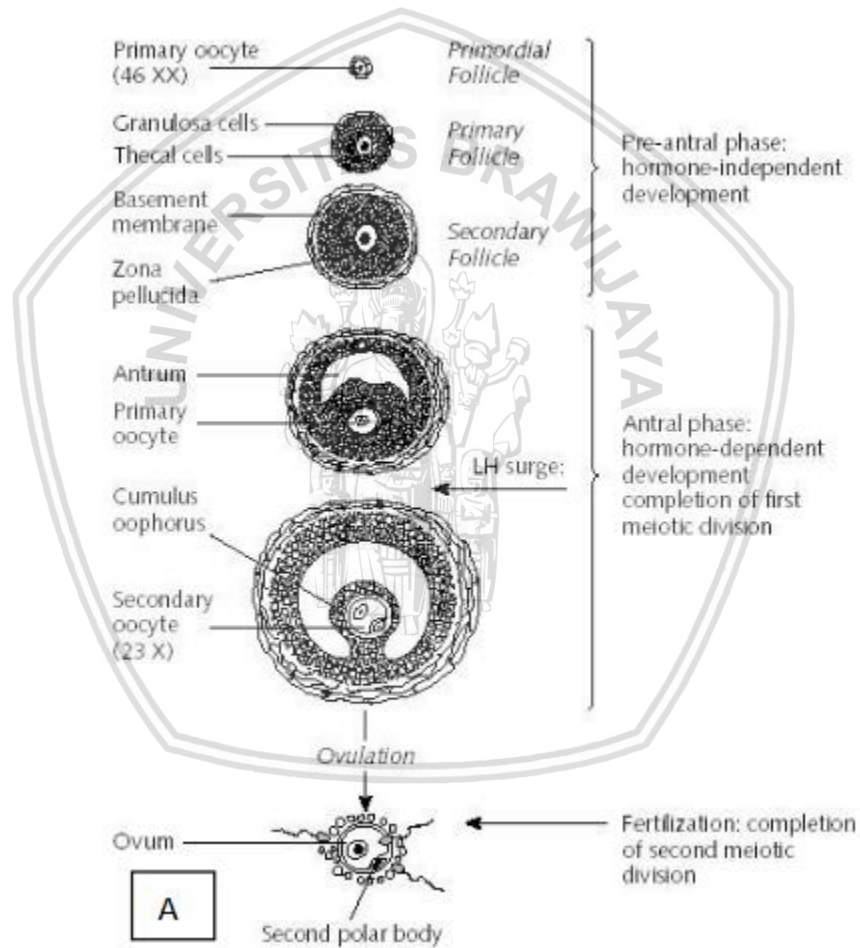


Gambar 2.3 Struktur mikroskopis ovarium (Syamsuddin, 2014).

Setiap ovarium terdiri atas medula di bagian dalam dan korteks di bagian luar. Bagian medula menerima darah dan suplai saraf, dan bagian korteks berisi ovum. Semenjak lahir, ovarium mengandung beratus-ratus sel telur primordial dan hampir seluruh ovarium tertutup sempurna oleh lapisan tunggal epitel benih atau epitelium germinalis. Tahap permulaan perkembangan folikel di dalam ovarium adalah folikel primordial (kadang-kala disebut folikel primer). Ribuan oosit yang belum masak di dalam ovarium hewan yang baru lahir berada dalam tahap ini sampai mereka kelak diaktifkan dalam kehidupannya dan mulai berkembang lebih lanjut. Folikel primordial terdiri dari sel reproduksi yang belum matang (oosit) yang dikelilingi oleh selapis sel-sel folikuler pipih. Ketika FSH dilepaskan dari pituitari anterior, seluruh ovarium memberikan respon terhadap hormon itu. Akan tetapi, ada sesuatu yang menyebabkan hanya beberapa dari ribuan folikel primordial yang mulai berkembang. Ini dikenal dengan rekrutmen folikel atau pengaktifan folikel (Arman, 2014).

Folikel yang sedang berkembang (*growing follicle*) dapat dinyatakan ketika folikel primordial mulai diaktifkan. Sel-sel folikel kemudian menebal menjadi berbentuk kubus (kuboid) dan mulai memperbanyak diri. Selanjutnya diikuti pembentukan lapisan sel-sel folikel yang banyak di sekitar oosit yang sedang berkembang. Sampai tahap ini sel-sel folikel dinamakan sel-sel granulosa. Ketika sel-sel granulosa memperbanyak diri, ukuran folikel mulai tumbuh dengan cepat. Sel-sel granulosa secara fisik bukan saja bertugas mengelilingi oosit yang sedang berkembang, namun mereka juga menghasilkan hormon estrogen yang fungsinya

mulai menyiapkan untuk perkawinan dan kebuntingan. Semakin besar ukuran folikel, semakin banyak jumlah estrogen yang dihasilkan. Ketika folikel meneruskan pertumbuhannya, ruang-ruang kecil berisi cairan mulai terbentuk di antara sel-sel granulosa. Ruang-ruang tersebut lambat laun menyatu bersama, membentuk satu ruangan berisi cairan yang dinamakan antrum (Arman, 2014).



Gambar 2.4 Skematik perkembangan sel-sel folikel (Syamsuddin, 2014).

Folikel primer terdiri dari satu bakat sel telur yang pada fase ini disebut oogonium, dan selapis sel folikuler kecil. Selapis tebal folikel-folikel ini

berkumpul di bawah tunica albugenia. Folikel sekunder berkembang ke arah pusat stroma korteks sewaktu kelompok sel-sel folikuler yang memperbanyak diri membentuk suatu lapisan multiseluler sekeliling vitellus. Pada stadium ini terbentuk suatu membran, zona pelusida, antara oogonium dan sel-sel folikuler. Folikel tersier timbul sewaktu sel-sel pada lapisan folikuler memisahkan diri untuk membentuk tepian dan suatu rongga, antrum, dimana oogonium akan menonjol. Antrum dibatasi oleh banyak lapisan sel folikuler yang dikenal secara umum sebagai membrana granulosa, dan diisi oleh suatu cairan jernih, *liquor folliculi*, yang kaya akan protein dan estrogen (Ihsan, 2010).

Ketika folikel telah mencapai ukuran maksimal, penampakkannya mirip lepuh, *acne* atau bintil pada permukaan ovarium. Pada tahap ini ia disebut folikel matang. Beberapa nama lain yang diberikan untuk folikel matang ini adalah folikel *Graff* dan folikel ovarium vesikular. Satu atau lebih folikel *Graff* berkembang dalam setiap siklus reproduksi, tergantung pada spesies. Di dalam folikel matang, oosit bertengger pada gundukan kecil dari sel-sel granulosa yang disebut kumulus ooforus dan dikelilingi oleh lapisan tipis sel-sel granulosa yang disebut korona radiata. Sebagian besar volume dari sel matang tersusun atas antrum yang berisi air. Pada tahap ini, produksi estrogen dari folikel mencapai tingkat maksimum, dan hewan betina siap untuk menerima perkawinan. Folikel *Graff* akhirnya kelak akan pecah seraya melontarkan ovum di dalamnya keluar (ovulasi) (Arman, 2014).

Ovulasi adalah peristiwa yang traumatik dan sedikit eksplosik. Permukaan folikel matang melemah dan secara fisik robek, tiba-tiba melepaskan cairan dari antrum. Desakan air yang keluar dari folikel membawa ovum bersamanya, masih dikelilingi oleh sel-sel granulosa yang mengitarinya (korona radiata). Folikel yang kosong kemudian terisi dengan darah yang dengan cepat membeku, membentuk korpus hemoragikum (Arman, 2014).

Di bawah rangsangan terus menerus oleh tingginya aras LH, sel-sel granulosa yang melapisi dinding folikel berisi darah mulai memperbanyak diri kembali. Saat ini sel-sel tersebut membentuk struktur padat, korpus luteum atau korpus lutea, yang ukurannya sebesar folikel matang saat menjelang ovulasi. Pada saat ini ovarium memasuki fase luteal. Istilah korpus luteum secara harfiah artinya “*yellow body*” (badan kuning) karena tampak jelas berwarna kuning pucat. Korpus luteum menghasilkan hormon yang disebut progesteron. Progesteron yang utama adalah progesteron, yang diperlukan untuk menjaga kebuntingan apabila terjadi pembuahan ovum. Apabila ovum berhasil dibuahi dan ditanam di dalam uterus, ovum ini akan mengirim sinyal endokrin ke ovarium sehingga menyebabkan korpus luteum dipertahankan. Sebaliknya jika ovum tidak dibuahi maka tidak akan ada sinyal endokrin yang dikirim dan beberapa yang dikirim dan beberapa saat kemudian korpus luteum berdegenerasi (Arman, 2014).

Tidak semua folikel yang diaktifkan dalam siklus ovarium tertentu berkembang sepenuhnya dan berovulasi. Ini diibaratkan seperti penyelenggaraan “audisi” folikel-folikel ovarium yang memilih beberapa di antaranya untuk

dikembangkan sepenuhnya. Sisanya berdegenerasi sewaktu-waktu setiap tahap perkembangannya. Ini disebut atresia folikel yang merupakan hal normal dalam setiap siklus ovarium (Arman, 2014).

2.3 Pembentukan oosit

Sel gamet pada betina dinamakan ovum. Ovum mengandung *deutoplasma* atau yolk yaitu cadangan makanan yang terdiri dari butiran-butiran lemak, karbohidrat dan protein. Ovum dilapisi tiga macam selaput pelindung yaitu selaput primer dihasilkan oleh ovum itu sendiri disebut membran vitteline, selaput sekunder pada mamalia disebut zona pellusida yang dihasilkan oleh oosit dan sel-sel folikel dan selaput tersier yang terbentuk setelah pembuahan dihasilkan oleh kelenjar-kelenjar saluran kelamin betina (Syamsuddin, 2014). Menurut Ihsan (2010), sel telur atau ovum adalah suatu sel khas yang sanggup dibuahi dan selanjutnya dapat menjalani perkembangan embrional. Pengadaan ovum terjadi di dalam ovarium dan meliputi pembentukan ovum atau ovogenesis atau oogenesis dan pembentukan folikel atau folikulogenesis dan pelepasan sel telur atau ovulasi.

Ovum dihasilkan di dalam folikel-folikel ovarium melalui proses yang disebut oogenesis. Ovum tidak diproduksi terus menerus seperti halnya spermatozoa. Saat menjelang atau segera sesudah lahir, seekor betina memiliki jumlah oosit primer yang telah pasti pada ovariumnya. Ini adalah jumlah total yang dimiliki selama masa kehidupannya. Oosit primer masih tetap dalam keadaan diam dan belum matang sampai tiba saatnya “direkrut” sebagai bagian dari siklus ovarium. Setiap siklus ovarium menghasilkan satu atau lebih ovum matang,

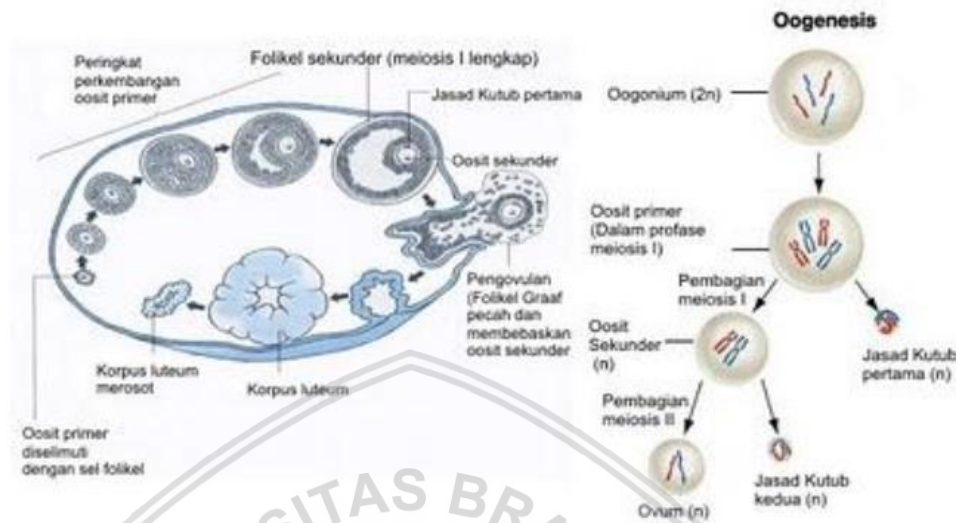
tergantung pada spesies. Oleh karena yang datang menemui ovum untuk membuahnya berada pada pihak spermatozoa, maka jumlah ovum tidak perlu banyak. Dengan demikian, proses oogenesis dirancang untuk menghasilkan ovum dalam jumlah sedikit pada suatu waktu (Arman, 2014).

Oogenesis dimulai dengan pembentukan bakal sel-sel telur yang disebut oogonia (tunggal: oogonium) (Syamsuddin, 2014). Pada permulaan minggu-minggu pertama masa embrional sel-sel kecambah primitif pembentuk gamet disebut *gonocyte*, berkembang di caudal entoblast ekstraembrional atau kantong kuning telur. Sel-sel kecambah asal ini bermigrasi dengan pergerakan amoeboid dari kantong kuning telur melewati mesenterium dorsalis ke lereng-lereng benih. Dalam beberapa hari kemudian kelamin gonadal embrio dapat dibedakan oleh adanya pembentukan tunica albugenia di permukaan dan lokasi sel-sel kecambah di sentral, dan lokasi oogonia yang perifer pada ovarium primitif (Ihsan, 2010).

Oogonia kemudian berproliferasi atau memperbanyak diri secara mitosis sesudah diferensiasi kelamin dan memasuki profase dari pembelahan meiosis yang pertama di mana sel-sel tersebut dinamakan oosit. Setiap betina akan terlahir dengan semua oositnya di dalam folikel-folikel primer atau yang lebih tua dan oosit-oosit ini tidak pernah dibentuk atau diganti lagi tetapi hanya berkurang jumlahnya selama hidupnya. Pertumbuhan oosit antara lain berupa pembesaran sitoplasma karena penumpukan granula-granula deutoplasma (kuning telur) dalam berbagai ukuran, pembentukan zona pelusida sebagai suatu selaput sel telur dan proliferasi mitosis epitel folikuler dan jaringan sekitarnya. Sel-sel folikuler ini

dapat berfungsi sebagai sel-sel pemberi makan bagi oosit dengan jalan menyediakan deutoplasma bagi bakal sel telur tersebut. Menjelang pubertas sel telur telah mengumpulkan reserve materi sebagai sumber energi bagi perkembangan selanjutnya. Faktor oosit mana yang harus mulai bertumbuh atau menyelesaikan pertumbuhannya selama siklus reproduksi tidak diketahui (Ihsan, 2010).

Menurut Syamsuddin (2014), perkembangan oosit terdiri dari tiga tahap yaitu proliferasi, pertumbuhan, dan pematangan. Pada tahap proliferasi terjadi proses mitosis oogonium menjadi beberapa oogonia yang terjadi pada saat pralahir atau sesaat setelah lahir kemudian oogonia berdiferensiasi menjadi oosit primer dengan inti tahap profase I. Inti oosit pada tahap ini disebut *Germinal Vesicle* (GV) yang ditandai dengan adanya membran inti yang utuh dan nucleus yang jelas. Selanjutnya oosit akan memasuki tahap pertumbuhan dan pematangan yang berlangsung bersamaan dengan proses perkembangan folikel. Pertumbuhan oosit ditandai dengan peningkatan diameter oosit dan penambahan ukuran dari organel-organel seperti kompleks golgi, retikulum endoplasmik halus, butir lemak, peningkatan proses transkrip untuk sintesis protein. Tahap pematangan oosit ditandai dengan beberapa proses perkembangan inti oosit (Syamsuddin, 2014).



Gambar 2.5 Proses Oogenesis (Syamsuddin, 2014)

Proses oogenesis terdiri dari beberapa tahap yaitu oogonium mengalami pembelahan mitosis berubah menjadi oosit primer, yang memiliki 46 kromosom. Pada saat ini nukleoli dan selaput akan menghilang dan kromosom memadatkan diri menjadi dua sentriol dan di sekitarnya terbentuk aster. Kedua aster tersebut bergerak saling menjauhi dan membentuk *spindle* di antaranya kromosom dalam pasangan-pasangan diploid dibebaskan ke dalam sitoplasma dan tersusun pada dataran katulistiwa *spindle* (metaphase I). Oosit primer melakukan meiosis (tahap I), yang menghasilkan dua sel anak yang ukurannya tidak sama. Sel anak yang lebih besar adalah oosit sekunder yang bersifat haploid (n). Ukurannya lebih besar dari yang lain karena berisi lebih banyak sitoplasma dari oosit primer yang lain. Sel anak yang lebih kecil disebut badan polar pertama yang kemudian membelah lagi (Syamsuddin, 2014).

Selama pembelahan meiosis kedua, oosit sekunder menjadi bersifat haploid (n) dengan 30 kromosom. Oosit sekunder akan membagi diri menjadi ootid dan badan kutub kedua. Kedua badan kutub tersebut yang mengandung sedikit sekali sitoplasma, terjirat di dalam zona pelusida dan mengalami degenerasi. Badan kutub pertama dapat pula membagi diri sehingga zona pelusida dapat berisi satu, dua atau tiga badan kutub. Pembelahan meiotik kedua mulai terjadi akan tetapi tidak terselesaikan sebelum atau apabila tidak terjadi pembuahan (Ihsan, 2010). Ketika inti nukleus sperma dan ovum siap melebur menjadi satu, saat itu juga oosit kemudian mencapai perkembangan akhir atau akhirnya menjadi ovum yang matang. Peristiwa pengeluaran sel telur dikenal dengan istilah ovulasi. Pada setiap ovulasi hanya satu telur yang matang dan dapat hidup 24 jam. Jika ovum yang matang tersebut tidak dibuahi, maka sel telur tersebut akan mati dan luruh (Syamsuddin, 2014).

2.4 Hipofungsi Ovarium

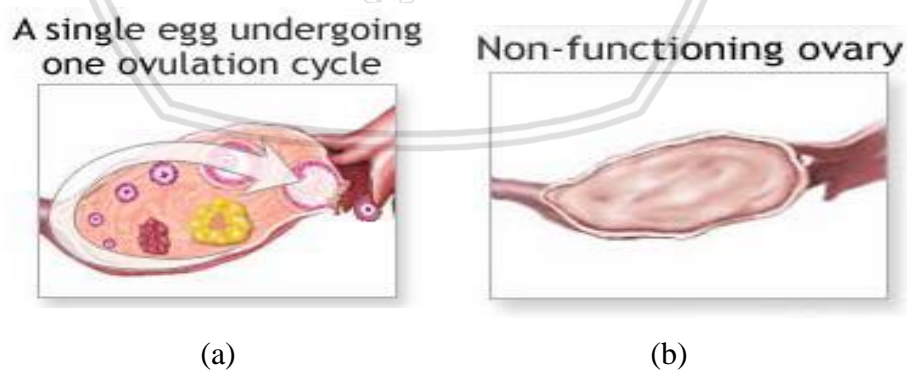
Hipofungsi ovarium merupakan kondisi patologik karena gangguan sekresi hormon FSH-LH, sehingga konsentrasi FSH-LH tidak seimbang. Gangguan keseimbangan FSH-LH terjadi karena kesalahan manajemen pakan, stres lingkungan dan defisiensi hormon. Semua kondisi negatif ini menyebabkan terganggunya poros hypothalamus-hypofisa-ovarium dan berdampak pada penurunan sekresi GnRH oleh hipotalamus dan diikuti menurunnya hormone gonadotropin FSH-LH serta mengakibatkan tidak tumbuhnya folikel pada ovarium. Sapi yang menderita hipofungsi ovarium menunjukkan gejala anestrus

dalam jangka waktu lama. Ukuran ovarium normal namun permukaannya licin, karena tidak terjadi pertumbuhan folikel. Cara menanggulangi gangguan reproduksi karena hipofungsi ovarium diperlukan perbaikan faktor manajemen penyebabnya di samping pemberian preparat hormonal FSH-LH *like*. Bila keadaannya sudah menjadi lebih baik dapat disusul dengan penyuntikan preparat kombinasi FSH-LH atau FSH-LH *like* seperti, PMSG dan hMG (Hermadi, 2015).

Pada kasus hipofungsi ovarium, karena tidak terjadi proses steroidogenesis mengakibatkan tidak terjadi pula proses folikulogenesis. Hal ini terjadi karena kurangnya kadar hormon FSH dan LH di dalam aliran darah. TGF β meningkatkan beberapa efek FSH termasuk menginduksi aktivitas aromatase pada sel granulosa (Ingman, dkk, 2002). Menurut (Santen et al, 2009) Aromatase merupakan enzim yang berperan untuk mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen. Androgen dihasilkan oleh sel teka. Sel teka akan merespon LH (luteinizing hormone) meningkatkan jumlah reseptor LDL dan memasukkan kolesterol kedalam sel. LH juga menstimulasi aktivitas P450_{scc} yang menyebabkan peningkatan produksi androgen.

Estrogen merupakan salah satu hormon reproduksi pada hewan betina. Hormon ini terutama disekresi oleh sel-sel granulosa penyusun folikel ovarium. Struktur hormon estrogen tersusun atas 18 atom C, gugus -OH fenolik pada C-3, sifat aromatik cincin A dan tidak mempunyai gugus metil pada C-10. Bentuk hormon estrogen dalam tubuh hewan betina berupa estradiol 17- β , estron dan

estriol, namun yang paling poten dan dijumpai dengan jumlah yang cukup tinggi dan paling poten dalam tubuh adalah estradiol 17- β . Estrogen merupakan hormon seks steroid yang berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan seksual sekunder betina, seperti kelenjar mammae dan organ reproduksi yang lain. Pengaruh estrogen dalam jaringan reproduksi, terutama memacu proliferasi sel. Aksi estrogen dalam jaringan atau sel target membutuhkan reseptor estrogen yang dikendalikan oleh gen pada kromosom. Aktivitas estrogen di dalam sel dimulai setelah terjadi ikatan estrogen dengan reseptor di dalam sitosol. Kompleks estrogen dan reseptor selanjutnya berdifusi ke dalam inti sel dan melekat pada DNA. Ikatan kompleks estrogen-reseptor dengan DNA menginduksi sintesis dan ekspresi mRNA berupa sintesis protein sehingga meningkatkan aktivitas sel target, yang ditunjukkan dengan terjadinya proliferasi sel (Sitasiwi, 2006).



Gambar 2.6 (a) Ovarium normal dan (b) hipofungsi ovarium (Bulun, 2016).

2.5 *Transforming Growth Factor β Receptor (TGF β R)*

2.4.1 *Karakteristik Transforming Growth Factor β Receptor (TGF β receptor)*

TGF β R adalah reseptor tipe 1 untuk ligan TGF β . Secara in vitro, TGF β R akan memediasi sinyal faktor diferensiasi pertumbuhan 9 (GDF9) dan TGF β , protein yang disekresikan oosit diperlukan untuk folikulogenesis ovarium, fungsi sel cumulus, dan perkembangan oosit. *Transforming Growth Factor β* (TGF β) merupakan *growth factor* yang disekresikan pada mamalia, family protein yang berperan dalam proses patologi dan fisiologi. Jalurnya terdiri dari ligan, reseptor, dan SMAD transduser (Li *et al*, 2011).

Superfamili TGF β terdiri lebih dari tiga puluh protein yang terbagi dalam 30-80% urutan homologi. Karakteristik terbaik meliputi lima isoform yaitu TGF β , activin, inhibin, zat penghambat Mullerian, morfogenik tulang protein dan faktor pertumbuhan / diferensiasi. TGF β 1, TGF β 2 dan TGF β 3 diekspresikan pada mamalia, sedangkan TGF β 4 dan TGF β 5 diekspresikan pada burung dan *Xenopus laevis*. TGF β 1 aktif secara biologis, TGF β 2 dan TGF β 3 adalah 25 kDa homodimer yang dihubungkan oleh ikatan disulfida yang berbagi tingkat konservasi urutan tinggi dan struktur tersier yang hampir sama. *Transforming Growth Factor β* (TGF β) pertama kali diidentifikasi pada dua dekade yang lalu dengan kemampuannya untuk menginduksi pertumbuhan fibroblas yang terkait dengan pertumbuhan. Sejak itu ditemukan sejumlah isoform alternatif yang dikodekan oleh gen individu. Isoform ini berbagi banyak fungsi biologis dan secara khas

mempengaruhi viabilitas dan apoptosis, proliferasi dan diferensiasi, adhesi dan migrasi di beberapa garis keturunan sel (Ingman, 2002).

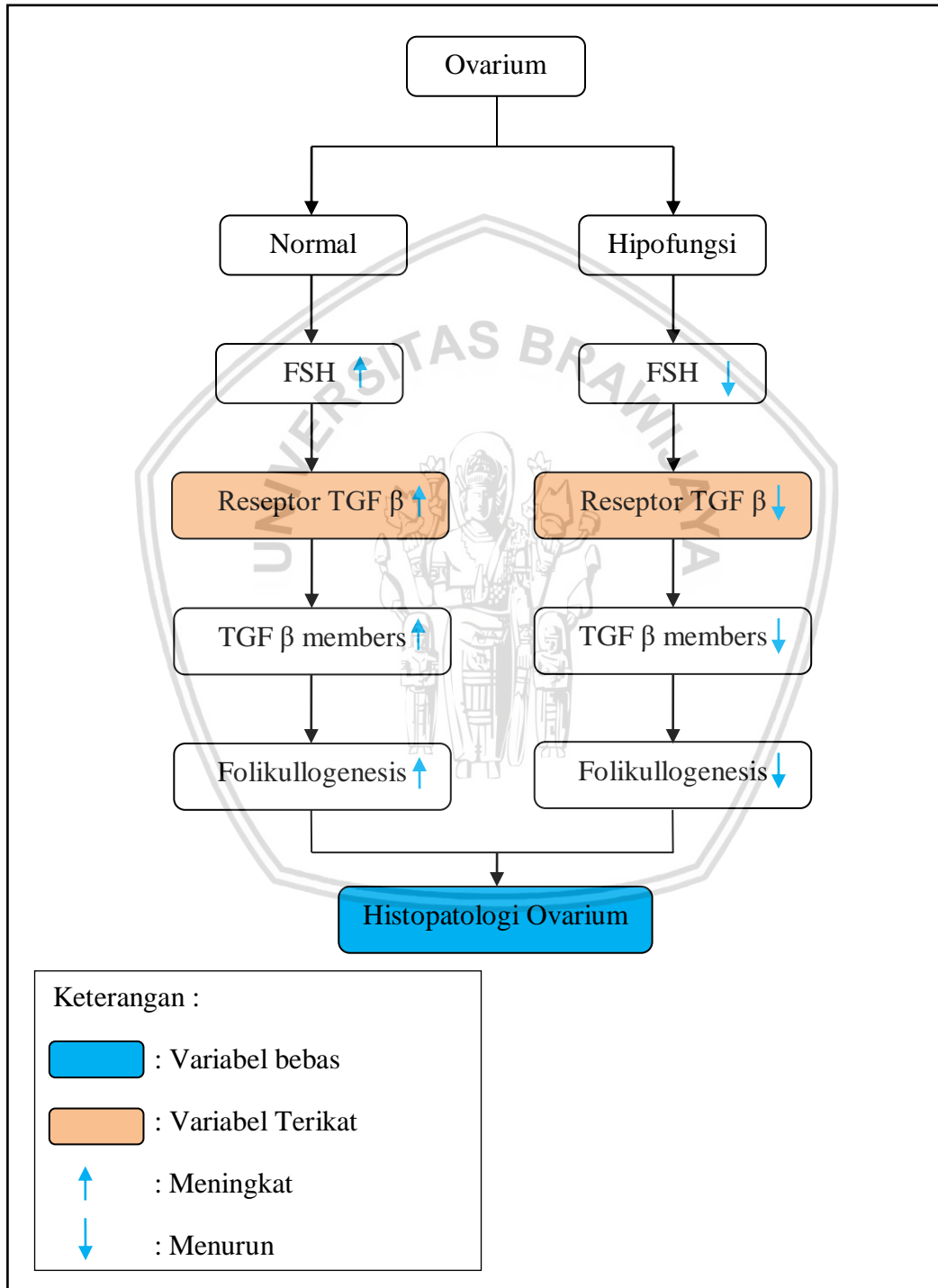
2.4.2 Peran *Transforming Growth Factor* β (TGF β)

Selama proses folliculogenesis dan pematangan oosit, yang melibatkan jaringan kompleks interaksi antar, faktor pertumbuhan berfungsi untuk mengatur proliferasi dan diferensiasi sel ovarium. Tiga isoform TGF β dapat dideteksi pada sel theca dan granulosa pada ovarium dan terlokalisasi selama proses pematangan folikel. TGF β diyakini dapat meningkatkan beberapa efek FSH termasuk induksi aktivitas aromatase pada sel granulosa dan promosi sintesis DNA pada sel folikel. Selain meningkatkan sensitivitas sel terhadap FSH, TGF β 1, TGF β 1 dan TGF β 2 keduanya telah dilaporkan untuk merangsang ekspresi reseptor FSH oleh sel granulosa. TGF β pada ovarium membantu proses folliculogenesis dan produksi pematangan oosit, melalui peningkatan efek FSH dan dengan merangsang produksi estradiol. Hal ini didukung oleh korelasi positif antara TGF β 1 pada kandungan cairan folikuler dan berhasilnya kehamilan pada manusia melalui fertilisasi in vitro. Penghambatan ovulasi oleh TGF β berperan dalam kinetika ovulasi, mencegah pecahnya folikel prematur oleh mekanisme yang berpotensi menghambat aktivasi makrofag, sehingga memungkinkan terjadinya pematangan di sitoplasma oosit. Setelah ovulasi, TGF β terlibat dalam perkembangan dan fungsi korpus luteum, dimana TGF β 1 dan TGF β 2 diproduksi oleh sel luteal dan makrofag. Peran isoform TGF β ini dalam fungsi luteal untuk mediasi efek prolaktin dan menghambat apoptosis sel lutein (Ingman, dkk, 2002).

Superfamily member TGF β terdiri dari bone morphogenetic protein (BMP-4, BMP-6, BMP-7, BMP-15), growth and differentiation factor (GDF9), *anti-mullerian* hormone (AMH), TGF β activin dan inhibin. Adapun fungsi masing-masing member yaitu BMP-4 dan BMP-7 berasal dari sel stroma yang akan meningkatkan aktivasi folikel primordial, meningkatkan proliferasi sel granulose, perkembangan folikel preantral, inhibin, produksi activin, dan menginduksi produksi androgen oleh sel teka, BMP-6 berasal dari oosit, sel granulose yang meningkatkan proliferasi sel granulose, menurunkan produksi androgen dari sel teka, BMP-15 berasal dari oosit meningkatkan perkembangan folikel dari primordial ke folikel primer, meningkatkan proliferasi sel granulose dan mengatur respon FSH pada sel granulose, GDF9 berasal dari oosit meningkatkan bentuk dari folikel primordial, sebagai proliferasi sel granulose, meningkatkan perkembangan cumulus yang mengatur respon FSH pada sel granulose dan mempengaruhi kecepatan ovulasi, TGF β berasal dari sel teka, sel granulose dan oosit yang berperan produksi LH-dependent androgen oleh sel teka, Activin berasal sel granulose yang meningkatkan proliferasi sel granulose, meningkatkan FSHR dan FSH yang menginduksi ekspresi aromatase, menurunkan LH yang menginduksi produksi androgen oleh sel teka dan pematangan oosit, Inhibin berasal dari sel granulasi pada folikel antrum yang meningkatkan LH yang menginduksi produksi androgen oleh sel teka dan menurunkan pertumbuhan folikel (Knight and Glister, 2006).

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

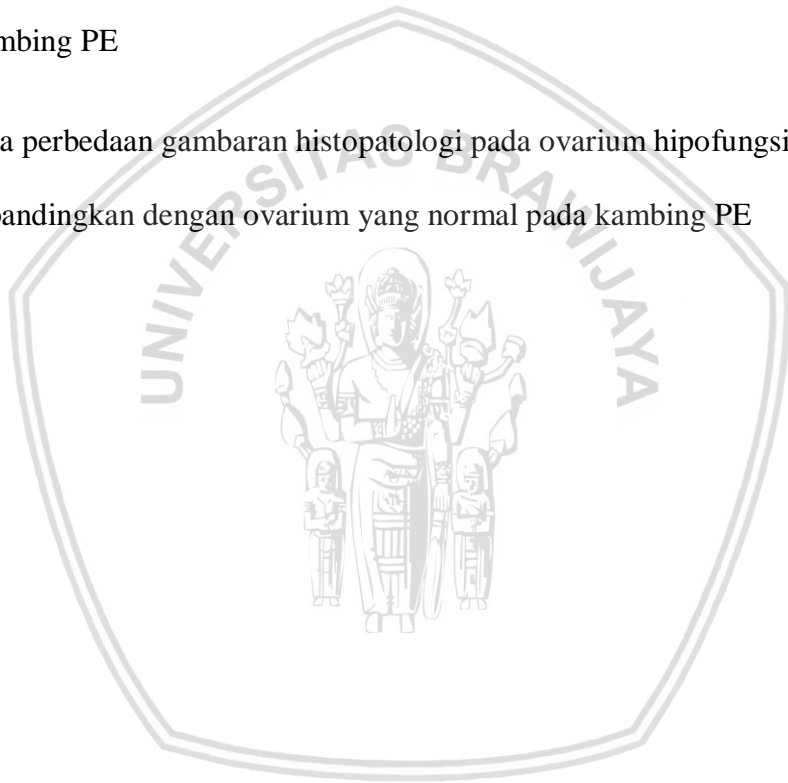
Pada ovarium normal, hormon-hormon steroid seperti FSH dan LH membantu dalam proses folikulogenesis. Salah satu reseptor yang berada pada ovarium yaitu TGF β receptor sebagai tempat melekatnya TGF β members yang memiliki fungsi membantu proses follikulogenesis, ovulasi dan implantasi embrio. Selain itu TGF β juga meningkatkan beberapa efek FSH termasuk menginduksi aktivitas aromatase pada sel granulosa merupakan enzim yang berperan untuk mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen. *Transforming Growth Factor β* (TGF β) merupakan *growth factor* yang disekresikan pada mamalia, famili protein yang berperan dalam proses patologis dan fisiologis. TGF β reseptor dapat dideteksi pada sel theca dan granulosa pada ovarium dan terlokalisasi selama proses pematangan folikel. Pada ovarium normal, TGF β reseptor diekspresikan oleh oocyt di dalam ovarium meningkat dibandingkan dengan ovarium yang mengalami hipofungsi.

Hipofungsi ovarium terjadi akibat kesalahan manajemen pakan sehingga terjadi penurunan hormon-hormon steroid seperti FSH dan LH di dalam aliran darah. Penurunan FSH akan memicu penurunan ekspresi TGF β receptor di ovarium sehingga terjadi penurunan aktivitas TGF β member. Hal ini akan berdampak pada penghambatan proses folikulogenesis di ovarium sehingga menyebabkan atropi ovarium. Pada atropi ovarium akan teramati abnormalitas perkembangan folikel pada histopatologi ovarium.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep yang telah ada, maka hipotesis yang dapat diajukan adalah sebagai berikut :

1. Ada perbedaan ekspresi *Transforming Growth Factor β* (TGF β) reseptor pada ovarium hipofungsi dibandingkan dengan ovarium yang normal pada kambing PE
2. Ada perbedaan gambaran histopatologi pada ovarium hipofungsi dibandingkan dengan ovarium yang normal pada kambing PE



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juni-Juli 2017. Ovarium kambing didapatkan dari limbah Rumah Potong Hewan; proses pembuatan preparat histologi ovarium dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Kessima Malang, proses imunohistokimia dan analisa hasil imunohistokimia dilakukan di Laboratorium Biomolekuler Fakultas MIPA (Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam) Universitas Brawijaya.

4.2 Alat dan Bahan

4.2.1 Alat

Tempat sampel, botol, wadah, pinset, blok kayu, mikrotum, kuas, gelas objek, *hot plate*, inkubator, *coverglass*, dan mikroskop, talenan, pisau scalpel, saringan, tissue casset, mesin processor otomatis, mesin vaccum, mesin bloking, freezer (-20 °C), mesin microtome, pisau microtome, water bath 46 °C, kaca obyek, kaca penutup, rak khusus untuk pewarnaan, oven 60°C.

4.2.2 Bahan

Ovarium kambing, formalin, etanol 70%, etanol 80%, etanol 90%, etanol 95%, etanol *absolute*, xylol, paraffin cair, air hangat, aquades, PBS, buffer sitrat, EDTA, H₂O₂, metanol, susu skim 1%, PBS-tween, antibodi

primer, antibodi sekunder, SA-HRP (*Strep Avidin Horse Radish Peroxidase*), DAB (*Diamano Benzidine*), *Mayer Hematoxylin*, air mengalir, entellan dan tisu, etanol absolute, *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%, Glyserin 99,5%, albumin, larutan hematoksin, lithium carbonat, larutan eosin, DPX.

4.3 Tahapan Penelitian

4.3.1 Rancangan Penelitian

Jumlah preparat imunohistokimia dari ovarium normal dan ovarium hipofungsi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu masing-masing 10 buah ovarium.

4.3.2 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dari penelitian ini yaitu :

Variabel bebas : Hipofungsi Ovarium.

Variabel Terikat : Ekspresi TGF β Receptor, Gambaran Histopatologi Ovarium

Variabel Kendali : Umur kambing, kualitas ovarium, jenis kambing, media pembawa.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Koleksi Ovarium Kambing

Ovarium kambing didapatkan dari Rumah Potong Hewan kemudian ovarium kambing digolongkan berdasarkan Ovarium hipofungsi dan ovarium normal, setelah itu dicuci dengan NaCl dan dimasukkan ke dalam pot organ berisi formalin 90% yang telah diberi label kemudian ovarium dibawa ke laboratorium.

4.4.2 Pembuatan Preparat Histologi Ovarium Kambing

Tahap pembuatan preparat histologi terdiri dari proses fiksasi, dehidrasi, infiltrasi penjernihan, infiltrasi paraffin, embedding, sectioning, penempelan di gelas objek, serta pewarnaan (Hadi, 2015).

Proses pembuatan preparat histologi diawali dengan proses perendaman ovarium dalam etanol 70% minimal selama 24 jam, dan dilanjutkan dengan perendaman kedalam etanol 80% selama 2 jam. Organ selanjutnya direndam dalam etanol 90% dan 95% secara berurutan selama masing-masing 20 menit dan 25 menit. Proses dilanjutkan dengan merendam organ dalam *etanol absolute* selama 3x30 menit dalam botol yang berbeda. Selanjutnya dilakukan penjernihan dengan cara perendaman dalam xylol, yaitu xylol I selama 2x30 menit dan xylol II selama 30 menit pada suhu 60-63°C. Kemudian, dilakukan pencelupan pada paraffin cair, lalu dilanjutkan dengan embedding dengan mencelupkan ovarium dalam paraffin cair yang

telah dituang dalam wadah. Setelah beberapa saat paraffin akan memadat dan ovarium akan berada dalam blok paraffin (Hadi, 2015).

Proses *embedding* dilakukan dengan menggunakan cetakan yang didalamnya diisi paraffin cair hingga membeku. Setelah membeku, cetakan tersebut di potong-potong dan ditempelkan pada blok kayu. Blok kayu tersebut dipasang pada mikrotom dan diatur agar posisinya sejajar dengan posisi pisau. Blok parafin kemudian dipotong dengan ketebalan 5 μm . Pada awal pemotongan harus dilakukan *trimming* karena jaringan yang terpotong masih belum sempurna. Blok paraffin dipotong sebanyak 2 irisan, Hasil irisan selanjutnya dipindahkan dengan kuas ke dalam air hangat dengan suhu 38-40°C untuk meluruskan kerutan halus yang ada. Irisan yang terentang sempurna diambil dengan gelas obyek. Irisan pertama diambil dengan gelas obyek yang diberi perekat albumin untuk pewarnaan HE. Irisan kedua diambil dengan *coated slide* yang diberi perekat *poly-L-lysine* guna pewarnaan IHK. Gelas obyek yang berisi irisan kemudian dikeringkan di atas *hot plate* yang bersuhu 38-40°C hingga kering dan disimpan pada inkubator dengan suhu 38-40°C selama kurang lebih 24 jam (Hadi, 2015).

4.4.3 Imunohistokimia Ovarium Kambing

Preparat histopatologi dari organ ovarium dideparafinasi ke dalam xylol I, xylol II, ethanol absolute I, ethanol absolute II, ethanol bertingkat (90%, 80%, 70%, 30%), dan aquades selama masing-masing 1 x 5 menit, kemudian dicuci dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3x. Selanjutnya preparat

diunmusking dalam buffer sitrat pH 6 sebanyak 10mM dan 1mM EDTA pH 8 selama 10-20 menit pada suhu 90 °C kemudian slide dicuci dengan menggunakan aquades. Tahap selanjutnya adalah proses *blocking peroksidase* jaringan dengan menggunakan H₂O₂ 3% dalam methanol selama 10 menit, kemudian dicuci dengan PBS sebanyak 3x. Proses selanjutnya yaitu *blocking slide* dengan susu skim 1% dalam PBS-tween selama 30 menit, kemudian slide dicuci menggunakan PBS sebanyak 3x. Slide selanjutnya diberi dengan antibodi TGFβ1 Receptor untuk antibodi primer dengan perbandingan 1:100 dalam susu skim 1% dan PBS-tween. Slide kemudian disimpan pada suhu 4°C selama kurang lebih 24 jam. Selanjutnya slide dicuci dengan PBS sebanyak 3x. Proses selanjutnya yaitu penambahan antibodi sekunder berlabel biotin dengan perbandingan 1:300 dalam PBS yang dibiarkan selama 1 jam, kemudian slide dicuci dengan PBS sebanyak 3x (Hadi, 2015).

Preparat selanjutnya ditetesi SA-HRP (*Strep Avidin Horse Radish Peroxidase*) dengan perbandingan 1:500 dalam PBS dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu ruang. Kemudian dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3x, lalu ditetesi dengan DAB (*Diamano Benzidine*) dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Slide kemudian dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3x, lalu dilakukan *counterstaining* slide dengan *Mayer Hematoxylin* selama 10 menit. Preparat selanjutnya dicuci dengan air mengalir selama 10 menit, kemudian dibilas dengan aquades dan

dikeringkan selama kurang lebih 1 malam. Tahap akhir yaitu proses mounting dengan menggunakan entellan kemudian ditutup dengan cover glass. Hasil selanjutnya diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Pengamatan ekspresi TGF β reseptor dilakukan dengan mengukur presentase area yang berwarna coklat menggunakan *software ImunoRatio* melalui pengamatan 5 bidang pandang kemudian dilakukan perhitungan rata-rata presentase area (Hadi, 2015).

4.4.4 Pewarnaan preparat dengan metode Hematoxyline-Eosin (HE)

Pewarnaan dimulai mencelupkan preparat ke dalam xylol sebanyak 2 kali masing-masing selama 3 menit. Selanjutnya preparat dimasukkan ke dalam etanol masing-masing selama 3 menit sebanyak dua kali. Proses dilanjutkan dengan mencelupkan preparat kedalam etanol bertingkat 90% dan 80% masing-masing selama 3 menit. Kemudian preparat dibilas dengan air mengalir selama 1 menit dan dilanjutkan tahap pewarnaan, yaitu preparat dimasukkan dalam pewarnaan hematoksilin selama 6-7 menit. Preparat dibilas dibawah air mengalir selama 1 menit. Setelah itu, preparat dicelupkan pada larutan pembiru selama 1 menit. Larutan pembiru adalah lithium carbonat sebanyak 1,5 gram yang dilarutkan dengan akuades 1 liter serta diaduk hingga homogen. Preparat dimasukkan dalam air selama 1 menit dan selanjutnya dicelupkan dalam larutan eosin selama 1-5 menit. Preparat dibilas dengan air mengalir untuk menghilangkan kelebihan eosin selama 1 menit. Tahap selanjutnya memasukkan preparat dalam etanol bertingkat 80%

dan 90% hingga etanol absolute 1 masing-masing 10 celupan. Pada etanol absolute 2, preparat direndam selama 1 menit. Lalu tahap clearing, dengan memasukkan preparat pada xylol, 1, 2 dan 3 masing-masing selama 3 menit. Preparat diangkut satu persatu dari xylol dalam keadaan basah dan diberi 1 tetes cairan perekat (DPX) kemudian ditutup dengan kaca penutup (Muntiha, 2001).

Pengamatan histopatologi hipofungsi ovarium dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya *Olympus* dengan perbesaran 40x, 100x, dan 400x. Dokumentasi histopatologi hipofungsi ovarium menggunakan kamera digital. Gambaran histopatologis digunakan untuk melihat folikel yang terbentuk pada kasus hipofungsi ovarium.

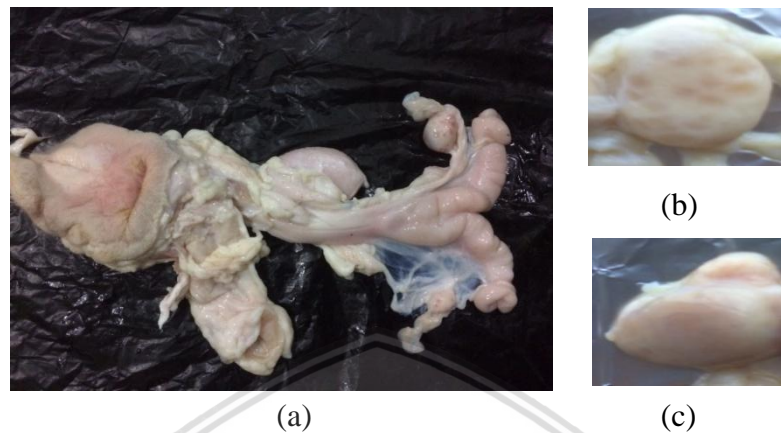
4.5 Analisa Data

1. Analisa data kuantitatif pada hasil pengukuran ekspresi *Transforming Growth factor β Receptor* (TGF β R) pada hipofungsi ovarium dan ovarium normal pada kambing dianalisa dengan menggunakan T test Independent dengan angka kepercayaan 95% ($p < 0,05$).
2. Analisa histopatologi ovarium dengan pewarnaan HE secara deskriptif dengan melihat perkembangan folikel pada ovarium yang mengalami hipofungsi dan ovarium yang normal.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Ekspresi TGF β reseptor pada Ovarium Hipofungsi

Organ reproduksi betina berupa ovarium yang berasal dari Rumah Potong Hewan selanjutnya diproses untuk dijadikan preparat. Ovarium dibawa menuju laboratorium dengan memasukkannya ke dalam *cooling box* dan diberi *Ice gel*, serta ovarium ditambahkan formalin 10%. Kemudian ovarium dikelompokkan ovarium normal dan ovarium yang mengalami hipofungsi. Penentuan kelompok dilakukan berdasarkan pengamatan makroskopis pada kondisi ovarium, dimana jika ditemukan folikel maka diklasifikasikan sebagai ovarium normal dan jika ditemukan ovarium yang tidak terbentuk folikel maka diklasifikasikan kedalam ovarium yang mengalami hipofungsi. Jumlah sampel yang diambil pada masing-masing kelompok yakni 10 buah ovarium ($n=10$), yang kemudian dibuat preparat dengan pewarnaan immunohistokimia dan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*. Pada pewarnaan Imunohistokimia menggunakan antibody primer (*TGF β 1 Receptor*) yang selanjutnya diikat dengan antibodi sekunder berlabel HRP botin (*rat goat rabbit poli hrp label*) serta substrat diamino benzidine (DAB) yang kemudian menghasilkan warna coklat sebagai visualisasi dari ekspresi TGF β reseptor pada ovarium. Pada proses pewarnaan Hematoxylin Eosin preparat yang telah dipotong dilakukan deparafinasi dengan xylol I dan II, selanjutnya rehidrasi dengan etanol absolut dan pewarnaan dengan *Hematoxylin Eosin*.



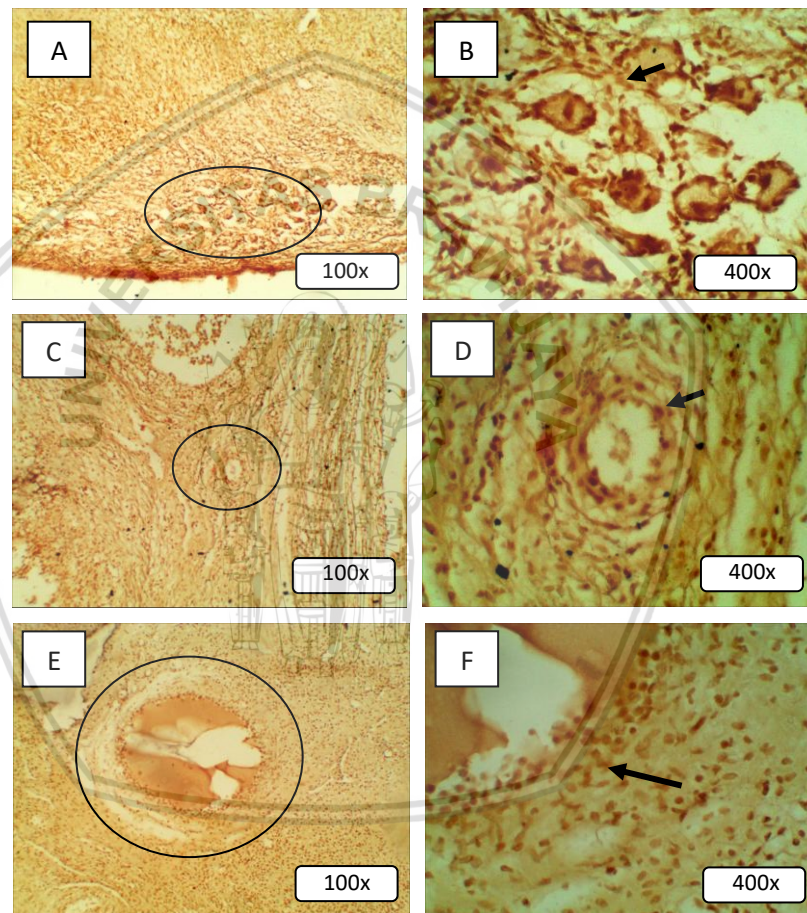
Gambar 5.1 (a) Organ reproduksi kambing betina dari Rumah Potong Hewan; (b) ovarium normal; (c) ovarium yang mengalami hipofungsi

Menurut Sirojudin (2000) ovarium yang mengalami hipofungsi tidak terjadi pertumbuhan folikel dan corpus luteal serta dengan permukaan yang licin sehingga daya kerjanya menurun dari normal, pada palpasi rectal ukuran ovarium terasa pipih, licin dan keras, atau dalam kasus yang parah hanya berupa suatu penebalan seperti tali tepi *kranial ligamentum ovarii*.

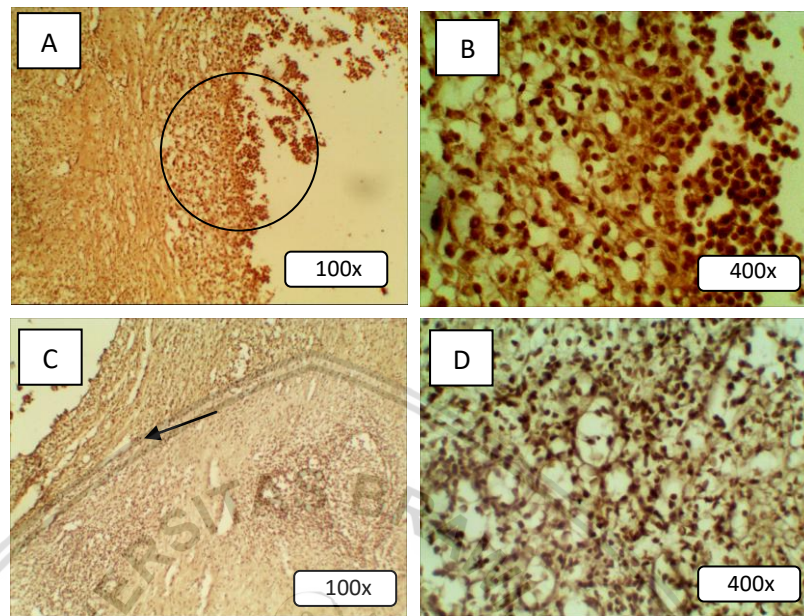
Hipofungsi ovarium yaitu tidak berkembangnya folikel subordinat menjadi folikel dominan dalam dua siklus birahi sehingga permukaan ovarium tampak licin, ukuran dan bentuk ovarium masih normal. hal ini disebabkan akibat menurunnya kadar LH dan FSH dalam darah serta manajemen pakan yang buruk sehingga kambing nampak kurus dan dapat menyebabkan atrofi ovarium (Hermadi, 2015).

5.2 Analisa letak TGF β reseptor pada ovarium normal dan ovarium hipofungsi

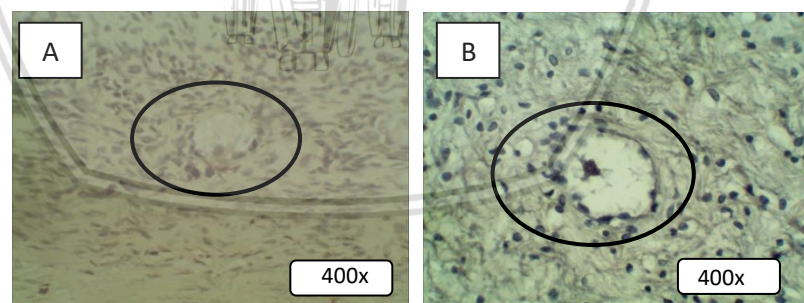
Ekspresi TGF β reseptor pada ovarium dengan proses pewarnaan imunohistokimia ditandai dengan adanya warna coklat pada folikel preantral dan antral.



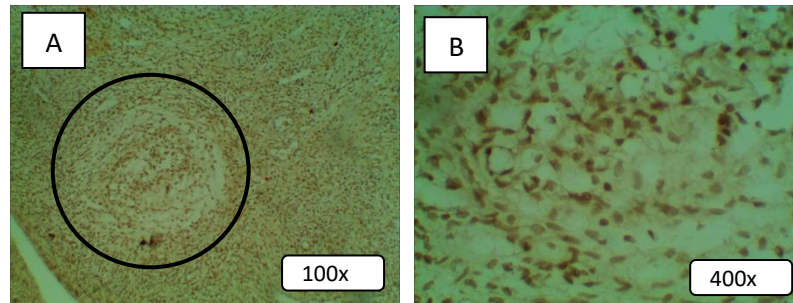
Gambar 5.2 Gambaran Ekspresi TGF β reseptor ovarium normal pada folikel preantral. (A) perbesaran 100x, kumpulan folikel primordial; (B) perbesaran 400x folikel primordial, ekspresi positif TGF β reseptor pada epitel folikel primordial (tanda panah hitam); (C) perbesaran 100x folikel primer (lingkaran hitam); (D) perbesaran 400x folikel primer, ekspresi positif TGF β reseptor pada epitel folikel primer; (E) perbesaran 100x, folikel sekunder (lingkaran hitam); (F) perbesaran 400x folikel sekunder, ekspresi positif TGF β reseptor pada sel granulosa.



Gambar 5.3 Gambaran Ekspresi TGF β reseptor ovarium normal pada folikel antral. (A) perbesaran 100x, folikel tersier (lingkaran hitam); (B) perbesaran 400x, ekspresi positif TGF β reseptor pada sel granulosa tersier (tanda panah hitam); (C) perbesaran 100x, folikel tersier (tanda panah hitam); (D) perbesaran 400x folikel tersier, ekspresi positif TGF β reseptor pada sel teka.



Gambar 5.4 Gambaran Ekspresi TGF β reseptor ovarium hipofungsi pada folikel preantral. (A) folikel primordial dan (B) folikel primer, perbesaran 400x, ekspresi negatif TGF β reseptor pada epitel folikel primordial dan folikel primer (lingkaran hitam).



Gambar 5.5 Gambaran Ekspresi TGF β reseptor ovarium hipofungsi pada folikel atresia. (A) perbesaran 100x, folikel atresia (lingkaran hitam); (B) perbesaran 400x folikel atresia, ekspresi positif TGF β reseptor terlihat sedikit pada folikel atresia.

Ekspresi TGF β reseptor pada ovarium kambing dapat diamati melalui pewarnaan IHK dengan adanya ekspresi warna coklat pada jaringan. Warna coklat tersebut dihasilkan melalui adanya ikatan antara antigen dan antibodi, dimana antigen akan berikatan dengan antibodi spesifik, yaitu antibodi primer berupa *TGF β 1* dan antibodi sekunder berupa *rat goat rabbit poli hrp label*. Ikatan antara antigen dan kedua antibodi ini kemudian akan diidentifikasi oleh kromagen DAB yang berikatan dengan O_2 untuk memberikan warna coklat, sebagai penanda adanya ikatan antara antibodi dengan antigen spesifik. Banyaknya ikatan antara antigen dan antibodi menunjukkan adanya ekspresi TGF β reseptor melalui adanya warna coklat.

Hasil analisa dari imunohistokimia pada ovarium normal menunjukkan adanya ekspresi positif pada folikel preantral **Gambar 5.2**, pada folikel primordial dan folikel primer terlihat jelas ekspresi pada sel epitel dikarenakan adanya peningkatan aktivasi folikel primordial, peningkatan proliferasi sel granulosa dan pertumbuhan folikel preantral peningkatan perkembangan folikel primer oleh TGF β

members yaitu *BMP-4* dan *BMP-7* serta peningkatan formasi folikel primordial oleh *GDF9*, sedangkan pada ovarium hipofungsi menunjukkan ekspresi negatif pada folikel preantral **Gambar 5.4** dikarenakan penurunan peran dari $TGF\ \beta$ *members* yaitu *BMP-4* dan *BMP-7* serta *GDF9*.

Pada ovarium normal folikel preantral **Gambar 5.2**, pada folikel sekunder terlihat bahwa ekspresi positif pada sel granulosa dikarenakan peran dari $TGF\ \beta$ *members* yaitu *BMP-4* dan *BMP-7* yang meningkatkan perkembangan folikel preantral, inhibin, produksi *aktivin*, peningkatan proliferasi sel granulosa dan menginduksi produksi androgen oleh sel teka, selain itu juga peran dari *GDF9* yang meningkatkan perkembangan cumulus yang mengatur respon FSH pada sel granulosa dan mempengaruhi kecepatan ovulasi, *aktivin* yang akan meningkatkan FSHR dan FSH yang menginduksi ekspresi aromatase serta pematangan oosit, $TGF-\beta$ yang berperan produksi LH-dependent androgen dan *BMP-15* dan *BMP-6* yang meningkatkan proliferasi pada sel granulos, sedangkan pada ovarium hipofungsi folikel sekunder tidak terbentuk, hal ini dikarenakan penurunan peran dari *BMP-4*, *BMP-7*, *GDF9*, $TGF\ \beta$ *BM-15*, *BMP-6* dan *aktivin*.

Pada ovarium normal pada folikel antral **Gambar 5.3**, pada folikel tersier terlihat ekspresi positif pada sel granulosa dan sel teka, hal ini dikarenakan peran dari $TGF\ \beta$ *members* yaitu *BMP-4* dan *BMP-7* yang berperan produksi *aktivin*, inhibin dan meningkatkan proliferasi sel granulosa, *GDF-9* yang meningkatkan perkembangan cumulus sebagai pengatur respon FSH pada sel granulosa, *BMP-15* dan *BMP-6* yang meningkatkan proliferasi sel granulosa, $TGF\ \beta$ berperan produksi

LH-dependent androgen, aktivin, meningkatkan FSHR dan FSH yang menginduksi ekspresi aromatase, serta inhibin meningkatkan LH yang menginduksi produksi androgen, sedangkan pada ovarium hipofungsi folikel antral tidak terbentuk.

Pada ovarium hipofungsi terdapat folikel atresia **Gambar 5.5**, hal ini dapat disebabkan karena penurunan peran dari TGF β members yaitu *BMP-4* menurun dapat mengakibatkan penurunan proliferasi pada sel granulosa, *GDF9* dan *BMP-15* yang menurun mengakibatkan penurunan perkembangan cumulus yang mengatur respon FSH, aktivin yang menurun mengakibatkan penurunan proliferasi sel granulosa dan dapat mengakibatkan tidak terjadinya pematangan oosit pematangan oosit, penurunan FSHR dan FSH yang menginduksi ekspresi aromatase dan inhibin yang menurun dapat mengakibatkan penurunan LH yang menginduksi produksi androgen oleh sel teka.

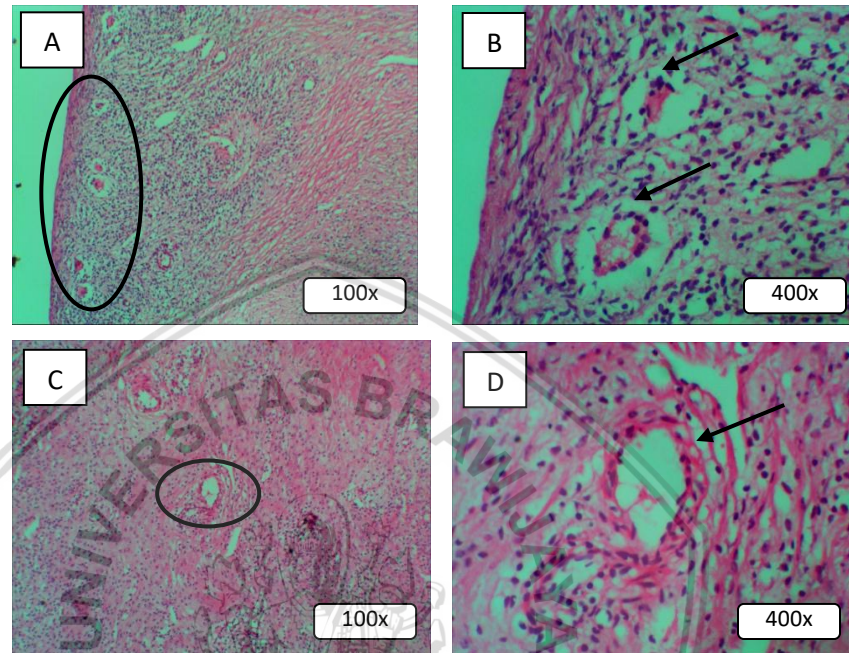
Tingkat ekspresi TGF β reseptor dilakukan dengan pengukuran presentase area DAB (%) menggunakan *software ImmunoRatio* dengan hasil presentase sebesar 95,0 % pada ovarium normal dan 27,8 % pada ovarium hipofungsi. Intensitas warna dari ekspresi TGF β reseptor dengan hasil rata-rata ovarium normal yaitu $70,83 \pm 20,79$ dan pada ovarium yang mengalami hipofungsi yaitu $41,73 \pm 22,24$ yang dilihat pada **Lampiran 6**. Hal ini menunjukkan bahwa TGF β reseptor lebih banyak terdapat pada ovarium normal dibandingkan dengan ovarium yang mengalami hipofungsi dan dibutuhkan sebagai tempat melekatnya TGF β members untuk membantu proses pembentukan folikel dan pematangan oosit. Selain itu perbedaan kondisi ovarium normal dan ovarium yang mengalami hipofungsi memiliki pengaruh yang signifikan

terhadap ekspresi TGF β reseptor, dimana pada ovarium normal dijumpai ekspresi yang lebih tinggi dibandingkan pada ovarium yang mengalami hipofungsi.

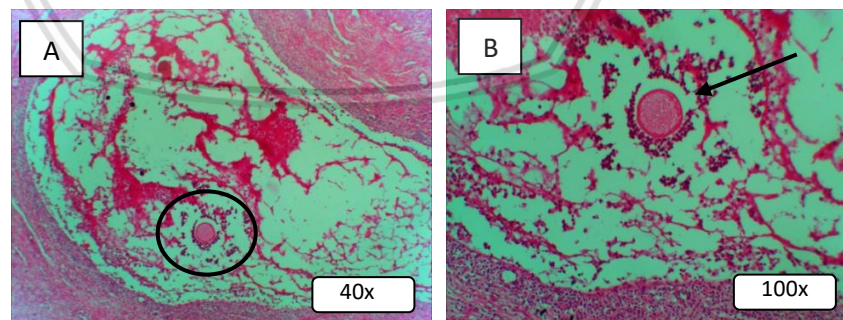
TGF β R adalah reseptor tipe 1 untuk ligan TGF β . Secara in vitro, TGF β R akan memediasi sinyal TGF β members protein yang disekresikan oosit diperlukan untuk folikulogenesis ovarium, fungsi sel cumulus, dan perkembangan oosit. *Transforming Growth Factor β* (TGF β) merupakan *growth factor* yang disekresikan pada mamalia, family protein yang berperan dalam proses patologis dan fisiologis. Jalurnya terdiri dari ligan, reseptor, dan SMAD transduser (Li *et al*, 2011) .

Menurut Ingman,dkk (2002) tiga isoform TGF β dapat dideteksi pada sel theca dan granulosa pada ovarium dan terlokalisasi selama proses pematangan folikel. TGF β diyakini dapat meningkatkan beberapa efek FSH termasuk induksi aktivitas aromatase pada sel granulosa dan promosi sintesis DNA pada sel folikel. Selain meningkatkan sensitivitas sel terhadap FSH, TGF β 1, TGF β 1 dan TGF β 2 keduanya telah dilaporkan untuk merangsang ekspresi reseptor FSH oleh sel granulosa. TGF β pada ovarium membantu proses folliculogenesis dan produksi pematangan oosit , melalui peningkatan efek FSH dan dengan merangsang produksi estradiol.

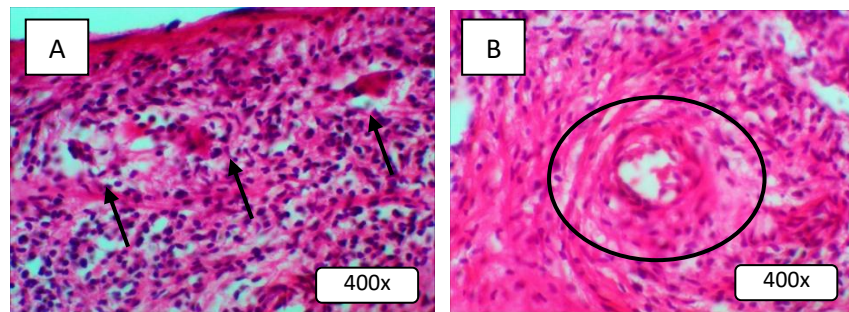
5.3 Gambaran histopatologi ovarium normal dan ovarium hipofungsi



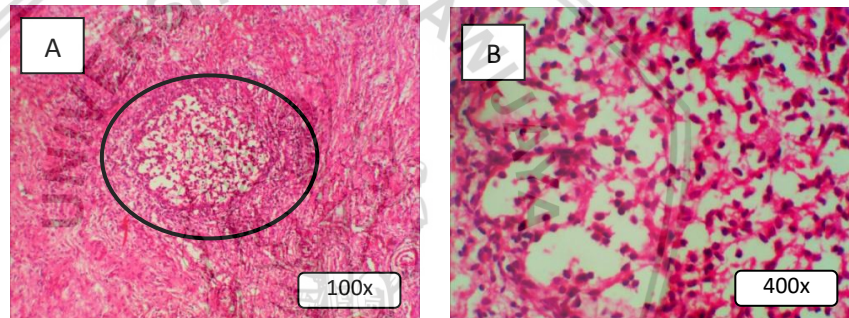
Gambar 5.6 Gambaran histologi ovarium normal pada folikel preantral. (A) perbesaran 100x, folikel primordial (lingkaran hitam); (B) pada folikel primordial oosit yang tampak jelas perbesaran 400x (tanda panah hitam); (C) perbesaran 100x, folikel primer (lingkaran hitam); (D) pada folikel primer terlihat oosit dan sel epitel tampak jelas perbesaran 400x (tanda panah hitam).



Gambar 5.7 Gambaran histologi ovarium normal pada folikel antral. (A) perbesaran 40x, folikel tersier (lingkaran hitam); (B) pada folikel tersier oosit terlihat normal perbesaran 100x (tanda panah hitam).



Gambar 5.8 Gambaran histopatologi ovarium hipofungsi pada folikel preantral. (A) perbesaran 400x folikel primordial (tanda panah hitam) oosit tidak tampak jelas; (B) perbesaran 400x folikel primer (lingkaran hitam) oosit dan sel epitel tidak tampak jelas.



Gambar 5.9 Gambaran histopatologi ovarium hipofungsi pada folikel atresia. (A) perbesaran 100x, folikel atresia (lingkaran hitam); (B) perbesaran 400x folikel atresia.

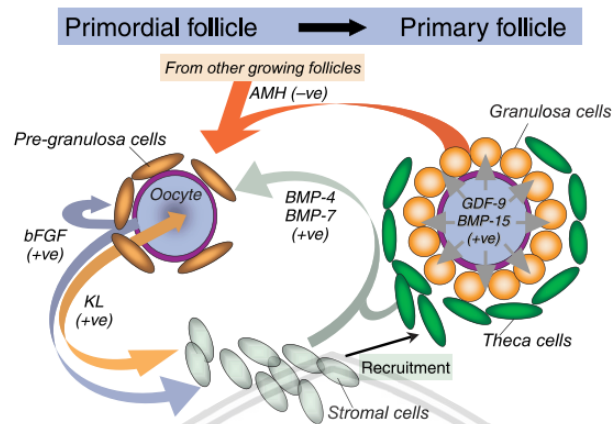
Hasil pengamatan preparat pewarnaan HE pada ovarium normal menunjukkan terbentuknya folikel preantral pada **Gambar 5.6**, pada folikel primordial dan folikel primer terlihat oosit dan sel epitel tampak jelas, hal ini dikarenakan peran dari TGF β members yaitu *BMP-4* dan *BMP-7* yang berperan meningkatkan aktivasi folikel primordial, meningkatkan proliferasi sel granulosa, pertumbuhan folikel preantral, peran *GDF9* dan *BMP-15* yang meningkatkan bentuk folikel dari primordial, meningkatkan perkembangan folikel primer, serta *aktivin* yang meningkatkan FSHR

dan FSH induksi ekspresi aromatase dan pematangan oosit, sedangkan pada ovarium hipofungsi **Gambar 5.8** terlihat oosit tidak tampak jelas, hal ini dapat disebabkan oleh penurunan peran dari TGF *members* yaitu *BMP-4*, *BMP-7*, *GDF9* dan *aktivin*.

Pada ovarium normal folikel antral **Gambar 5.7**, pada folikel tersier terlihat oosit tampak jelas, hal ini dikarenakan peran dari TGF β *members* yaitu *BMP-4* dan *BMP-7* yang meningkatkan proliferasi sel granulosa, inhibin dan produksi aktivin, *GDF9* dan *BMP-15* yang meningkatkan perkembangan cumulus yang mengatur respon FSH pada sel granulosa, *aktivin* meningkatkan FSHR dan FSH yang menginduksi ekspresi aromatase, pematangan oosit, dan inhibin yang meningkatkan LH yang menginduksi produksi androgen oleh sel teka, sedangkan pada ovarium hipofungsi folikel antral tidak terbentuk, hal ini dapat disebabkan oleh penurunan peran dari TGF β *members* yaitu *BMP-4*, *BMP-7*, *GDF9*, *BMP-15*, *Aktivin* dan *Inhibin*.

Pada ovarium hipofungsi terdapat folikel atresia **Gambar 5.19**, hal ini dapat disebabkan karena penurunan peran dari TGF β *members* yaitu *BMP-4* menurun dapat mengakibatkan penurunan proliferasi pada sel granulosa, *GDF9* dan *BMP-15* yang menurun mengakibatkan penurunan perkembangan cumulus yang mengatur respon FSH, aktivin yang menurun mengakibatkan penurunan proliferasi sel granulosa dan dapat mengakibatkan tidak terjadinya pematangan oosit pematangan oosit, penurunan FSHR dan FSH yang menginduksi ekspresi aromatase dan inhibin yang menurun dapat mengakibatkan penurunan LH yang menginduksi produksi androgen oleh sel teka.

Hal menunjukkan pada ovarium normal terjadinya proses folikulogenesis yang dibantu oleh hormon-hormon steroid seperti FSH dan LH, selain itu juga dengan adanya *growth factor* seperti TGF β *members* yang memiliki fungsi membantu proses follikulogenesis, ovulasi dan pematangan oosit, sedangkan pada ovarium hipofungsi terjadinya penurunan peran dari hormon-hormon steroid. Penurunan aktivitas FSH dan LH serta peran *growth factor* TGF β disebabkan karena penurunan fungsi kelenjar dalam tubuh, terutama kelenjar hipofisa anterior menjadi hipofungsi yang mengakibatkan tidak terjadinya pertumbuhan folikel ditandai dengan timbulnya anestrus, gangguan ovulasi menghasilkan embrio yang tidak sempurna. selain itu juga akan berdampak pada kondisi tubuh hewan akan nampak kurus dengan BCS < 2, penentuan *body condition Scoring* didasarkan pada penonjolan tulang rusuk, processus transverses, processus spinosus, tuber coxae, dan legok lapar tampak sangat cekung. Kondisi fisik yang buruk akibat gangguan hormonal dan pakan dapat menyebabkan hipofungsi ovarium akan berubah menjadi atropi ovarium. Atropi ovarium adalah ovarium yang ukurannya kecil dan permukaannya licin karena tidak tumbuhnya folikel sehingga proses reproduksi tidak berjalan sama sekali.



Gambar 5.10 Interaksi sinyal potensial pada transisi folikel primordial ke folikel primer (Knight dan Glister, 2006).

Interaksi sinyal potensial melibatkan transisi folikel preantral yaitu folikel primordial ke folikel primer. Kit ligan (KL) dan basic fibroblast growth factor (bFGF) disekresikan oleh sel granulosa dan oosit, kemudian akan membentuk sel teka dari populasi sel stroma disekelilingnya. Sel stroma dan sel teka akan mensekresikan BMP-4 dan BMP-7 yang akan menginduksi aktivasi dan pertumbuhan folikel. *GDF-9* dan *BMP-15* disekresikan oleh oosit untuk mengaktivasi pertumbuhan folikel serta proliferasi sel granulosa, ekspresi KL dan pembentukan sel teka. Sel granulosa akan mensekresikan *AMH* yang menghambat rekrutmen folikel primordial (Knight dan Glister, 2006).

Pada folikel primordial, perkembangan folikel diaktivasi oleh ligan pada TGF β members yaitu *BMP-4*, *BMP-7* dan *GDF-9* dan akan dihambat perekrutan folikel oleh *AMH*. Transisi folikel dari folikel primordial ke folikel primer dibantu oleh aktivitas dari *BMP-15* dan *GDF9* yang akan meningkatkan pertumbuhan folikel pada

folikel primer, transisi folikel primer ke folikel sekunder melibatkan aktivitas *BMP-4* dan *BMP-7* yang meningkatkan proliferasi sel granulosa, pertumbuhan folikel preantral, serta aktivitas aktivin yang meningkatkan FSHR dan FSH yang menginduksi ekspresi aromatase. Pada perkembangan folikel tersier, *BMP-4* dan *BMP-7* berperan meningkatkan pertumbuhan membran basal dan FSH yang menginduksi estrogen, *GDF-9* meningkatkan ekspresi cumulus yang mengatur respon FSH pada sel granulosa serta aktivin yang meningkatkan proliferasi sel granulosa dan meningkatkan FSHR dan FSH yang menginduksi ekspresi aromatase (Knight dan Glistler, 2006).

Folikulogenesis dimulai dari perekrutan folikel primordial dalam jumlah banyak yang dijumpai pada bagian korteks ovarium. Perekrutan tersebut diatur oleh tekanan jaringan dalam stroma pada korteks ovarium. Kepadatan stroma menurun secara bertahap dari korteks hingga bagian medulla (Woodruff dan Shea, 2011). Folikulogenesis dimulai saat folikel primordial menuju arah medula yang lebih lunak. Hal tersebut memicu selesainya istirahat meiosis oosit dalam folikel primordial (Silber, 2015) dan berkembang menjadi folikel primer kemudian folikel sekunder. Folikel sekunder mulai terjadi pembentukan antral kecil dan tersebar, selanjutnya antral menyatu sehingga terbentuk folikel tersier. Pada masa pembentukan antrum terjadi dinamika folikel antral yang terdiri atas perekrutan, seleksi, dominan dan atresi. Selama perkembangan jumlah folikel terus berkurang hingga mencapai folikel preovulasi (Senger, 2005).

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Terdapat ekspresi *Transforming Growth Factor β* (TGF β) reseptor pada ovarium yang mengalami hipofungsi dengan persentase yang lebih rendah dibandingkan dengan ovarium normal yaitu pada folikel preantral dan antral
2. Pada ovarium hipofungsi tidak terbentuk folikel antral tetapi adanya folikel atresia.

6.2 Saran

Penelitian ini perlu dilanjutkan untuk mengetahui protein-protein TGF beta pada serum sebagai biomarker.

DAFTAR PUSTAKA

- Arman, C. 2014. *Reproduksi Ternak*. Mataram: Graha Ilmu.
- Blakely, J. & D. H. Bade. 1992. *Ilmu Peternakan*. Edisi Ke-4. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Bulun SE. 2016. *The physiology and pathology of the female reproductive axis*. In: Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM, eds. *Williams Textbook of Endocrinology*. 13th ed. Philadelphia, PA: Elsevier:chap 17.
- Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC) Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada (UGM). 2009. Prosedur Tetap Pengamatan Ekspresi Protein dengan Metode Imunohistokimia. (serial online), [cited 2017 May. 1]. Available from: URL: <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/wp-content/uploads/2009/02/03012-imunositokimia.pdf>.
- Chen, S. Y. Y. H. 2005. Mitochondrial diversity and Phylogeographic structure of chinese domestic goats. *Molecular phylogenetic and evolution* 37 : 804- 814.
- Disnak Kabupaten Langkat. *Praktis Beternak Kambing dan Domba*. Medan: Dinas Peternakan Kabupaten Langkat.
- Hadi, R. P. 2015. *Studi Ekspresi Interleukin-I Alpha (IL-1 α) dan Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) pada Ovarium Tikus (Rattus norvegicus) Model Ca Mammae Hasil Induksi 7,12 Dimethylbenz α Anthracene (DMBA) Multiple Low Dose (MLD)*. Malang: Program Studi Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Hardijanto dkk. 2009. *Inseminasi Buatan*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya
- Heriyadi, D. 2002. *Sistem Perbibitan Ternak Ruminansia*. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Hermadi, H., A. 2015. *Pemberantasan Kasus Kemajiran pada Ternak menuju Kemandirian dibidang Kesehatan Reproduksi Hewan dan Ketahanan Pangan di Indonesia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Ihsan, M. N. 2010. *Ilmu Reproduksi Ternak Dasar*. Malang: UB Press.
- Ingman, W., V., dan Robertson, A., S. 2002. *Defining The Action of Transforming Growth Factor Beta in Reproduction*. Australia : University of Adelaide.

- Knight, P.G and Glistner, C. 2006. *TGF- β Superfamily members and ovarian follicle development*. UK: The University of Reading, Whiteknights.
- Li, Q., Agno, J.,E., Edson, M.,A., Nagaraja, A.,K., Nagashima, T., Matzuk, M., M. 2011. *Transforming Growth factor β Receptor Type 1 Is essential for Female Reproductive Tract Integrity and Function*. Texas : United States of America.
- Mileski, A. and P. Myers. 2004. *Capra hircus*, Animal Diversity Web. http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Capra_hircus.html.
- Moeljanto, RD, Wiryantto BTW. 2002. *Khasiat dan Manfaat Susu Kambing Terbaik dari Hewan Ruminansia*. PT. Argo Media Pustaka, Jakarta.
- Muntiha, Mohammad. 2001. *Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E)*. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- Prabowo, Agung. 2010. *Budidaya Ternak kambing*. Palembang : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumatera Selatan.
- Santen, R., J., Brodie, H., Simpson, E., R., Siteri, P., K., dan Brodie, A. 2009. History of Aromatase: Saga of an Important Biological Mediator and Therapeutic Target. Charlottesville : University of Virginia.
- Senger, P.L. (2005). *Pathways to Pregnancy and Parturition second revised edition*. Washington (US): Current Conception, Inc.
- Silber, S. (2015). Unifying theory of adult resting follicle recruitment and fetal oocyte arrest. *Reprod. Biomed. Online*. 31 (5): 472-475.
- Sitasiwi, A. J. 2006. Hubungan Kadar Hormon Estradiol 17- β dan Tebal Endometrium Uterus Mencit (*Mus musculus*) selama Satu Siklus Estrus. *Hubungan Kadar Hormon Estradiol 17 – β* . Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi FMIPA UNDIP.
- Sirojudin, Deden. 2000. Teknik Massage Ovari dan Penggunaan Potahormon pada Kasus Hipofungsi Ovarium Sapi Perah di Kabupaten Bogor. Bogor : Fakultas Peternakan. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Syamsuddin, R. 2014. Pengaruh Diameter Oosit Sapi Bali terhadap Tingkat Kematangan Inti Oosit secara in Vitro. Makassar: Program Studi Produksi Ternak. Jurusan Produksi Ternak. Fakultas Peternakan. Universitas Hasanuddin.

- Toelihere, M. R. 2006. *Ilmu Kebidanan pada Ternak Sapi dan Kerbau*. Bogor: Penerbit Universitas Indonesia.
- Winata, I. G. S. 2013. Ekspresi Protein 53 (p53) Tidak Berhubungan dengan Stadium Kanker Ovarium. *Tesis*. Denpasar: Program Pascasarjana. Universitas Udayana.
- Woodruff, T.K., and Shea, L.D. (2011). *A new hypothesis regarding ovarian follicle development: ovarian rigidity as a regulator of selection and health*. *Assist. Reprod. Genet.* 28 (1): 3-6.

